

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RADLA ZABIAN BASSETTO BISINELLA

**DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ DE *Lactobacillus*
Casei E SUCO DE YACON**

CURITIBA

2016

RADLA ZABIAN BASSETTO BISINELLA

**DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ DE
Lactobacillus Casei E SUCO DE YACON**

Tese apresentada ao curso de Pós- Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção de título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Dra. Maria Lucia Masson
Co-orientadora: Dra. Mareci Mendes
De Almeida

CURITIBA

2016

B622d

Bisinella, Radla Zabian Bassetto

Desenvolvimento de um produto simbiótico em pó de *Lactobacillus Casei* e suco de yacon / Radla Zabian Bassetto Bisinella. – Curitiba, 2016.

104 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2016.

Orientador: Maria Lucia Masson – Co-orientador: Mareci Mendes de Almeida.

Bibliografia: p. 72-86.


1. Alimentos funcionais. 2. Probióticos. 3. Prebióticos. 4. *Lactobacillus Casei*. 5. Frutooligossacarídeos. I. Universidade Federal do Paraná. II. Masson, Maria Lucia. III. Almeida, Mareci Mendes de. IV. Título.

CDD: 664

RADLA ZABIAN BASSETTO BISINELLA

**DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ DE
Lactobacillus casei E SUCO DE YACON**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:


Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. MARIA LUCIA MASSON
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof. Dr. EGON SCHNITZLER
Campus Uvaíras/UEPG


Dr.^a. LUCIANA DE SOUZA NEVES ELLENDERSEN
UFPR


Dr. ERIEL FORVILLE DE ANDRADE
Setor de Tecnologia, FUNPAR-UFPR


Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO MAFRA
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 01 de dezembro de 2016.

Dedico

Aos meus pais, Ersene Zabian Bassetto e Carlos Bassetto (in memorian).

Ao meu irmão, Italo Zabian Bassetto.

Ao meu filho, Cássio Zabian Bisinella.

Ao meu marido, Marcelo Bisinella.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai que, do lugar maravilhoso onde deve estar, olha e cuida de mim e vai servir como exemplo para eu seguir por toda a minha vida.

À minha família: minha mãe, meu irmão, tios e avó, pessoas que tornaram tudo mais fácil pelo simples fato de existirem, agradeço pelo apoio incondicional.

À querida professora Dr^a Maria Lúcia Masson, pela orientação, incentivo e principalmente pela confiança.

À querida professora Dr^a Mareci Mendes de Almeida, pelas várias contribuições na execução da parte prática e na avaliação da tese.

Ao professor Egon Schinitzler pelas valiosas contribuições.

À todos os professores, alunos e colaboradores da Universidade Federal do Paraná e Universidade Estadual de Ponta Grossa, que cederam equipamentos ou de alguma forma contribuíram para a elaboração deste trabalho.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, com destaque aos Laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos e o Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-LABMU).

À Milene de Andrade Vogt pela ajuda no dia a dia do laboratório.

À Cristina Soltovski e Tiago Colman pela ajuda nas análises térmicas.

Às queridas Paloma, Alessandra e Jéssica pela amizade, convivência sempre divertida e pelos momentos de descontração.

Ao meu marido Marcelo Bisinella companheiro incondicional, pela paciência, apoio e constante incentivo quando eu achava que não conseguiria e por sempre acreditar no meu potencial.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

À Deus, que sempre me apontou uma direção nos momentos mais difíceis e permitiu a finalização deste trabalho.

A todos que colaboraram de forma direta ou indireta na realização deste trabalho.

RESUMO

A tendência do consumo de alimentos com características funcionais reflete no aumento das pesquisas sobre os probióticos e prebióticos. A diversificação destes é limitada, pois existe dificuldade na elaboração de produtos biotecnológicos que tenham boa resistência ao processamento térmico e viabilidade durante sua vida útil. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um produto simbiótico em pó com yacon prebiótico encapsulado juntamente com o probiótico *Lactobacillus casei* através de secagem por aspersão. Foi utilizado um *spray dryer* de aço inox, em escala piloto, equipado com atomizador tipo dois fluidos e os agentes encapsulantes maltodextrina e soro de leite nas proporções de 60:40, 70:30 e 80:20 (m/m), respectivamente. Com o intuito de avaliar a qualidade final do produto simbiótico em pó, foram feitas análises de higroscopicidade, solubilidade, propriedades térmicas (TG – DTG e DSC), caracterização dos carboidratos, viabilidade celular e condições gastrointestinais simuladas. O comportamento das amostras foi predito através da utilização dos modelos teóricos GAB, Langmuir, BET, BET Linearizado. Os dados experimentais foram testados nestes quatro modelos teóricos, sendo o modelo de GAB o mais representativo para os dados de equilíbrio de umidade a 25°C. A proporção de maltodextrina e soro de leite 80:20 mostrou-se mais eficiente no processo de encapsulação. O produto em pó simbiótico encapsulado manteve a viabilidade probiótica, além de resistir às condições gastrointestinais simuladas e a quantidade mínima de prebiótico preconizada pela legislação vigente durante 30 dias de armazenamento à temperatura ambiente. Sendo assim, o desenvolvimento desse produto caracteriza-se como uma inovação importante para a indústria de alimentos funcionais.

Palavras-chave: frutooligossacarídeos, análise térmica, isoterma de sorção, *Smallanthus sonchifolius* sp.

ABSTRACT

The trend of food consumption with functional characteristics reflected in the increase in research on probiotics and prebiotics. The diversification of these is limited because there is difficulty in the development of biotechnology products which have good resistance to thermal processing and viability during storage. The aim of this study was to develop a product powder symbiotic of yacon encapsulated with the probiotic *Lactobacillus casei* through spray drying. One spray dryer stainless steel was used, pilot scale, equipped with atomizer type two fluids. Maltodextrin and whey were used as encapsulating agents in ratios of 60:40, 70:30 and 80:20 (w/w), respectively. To evaluate the final quality of the powder symbiotic product were performed analyzes in solubility hygroscopicity, thermal properties (TG – DTG e DSC), characterization of carbohydrates, cell viability and simulated gastrointestinal conditions. The behavior of the samples was predicted using the theoretical models GAB, Langmuir, BET, Linearized BET. The experimental data were tested in these four theoretical models, the GAB model was best represented the moisture equilibrium data at 25°C. The ratio of maltodextrin and whey 80:20 was the best for the encapsulation process. The powder symbiotic product encapsulated maintained the viability of the probiotic, beyond resist the simulated gastrointestinal conditions, and the minimum amount of prebiotic recommended at the current legislation for 30 days of storage at room temperature. Thus, the development of this product is characterized as an important innovation for the functional food industry.

Keywords: fructooligosaccharides, thermal analysis, sorption isotherm, *Smallanthus Sonchifolius* sp.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PRODUÇÃO DE FOS POR SACAROSE E INULINA.....	24
FIGURA 2 - FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DO TIPO 1 - KESTOSE (A), NISTOSE (B), FRUTOFU- RANOSIL NISTOSE (C).....	25
FIGURA 3 - FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DO TIPO 6G: NEOKESTOSE (A), 6-KESTOSE (B).....	26
FIGURA 4- DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA CONFIGURAÇÃO DE UM <i>SPRAY DRYER</i>	33
FIGURA 5 - FLUXOGRAMA GERAL DA EXECUÇÃO DOS EXPERIMENTOS	36
FIGURA 6 - PROCESSAMENTO PARA OBTENÇÃO DO SUCO CRIOCONCENTRADO DE YACON.....	39
FIGURA 7 - PROCESSAMENTO PARA OBTENÇÃO DO PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ.....	42
FIGURA 8 - PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AGENTES ENCAPSULANTES.	52
FIGURA 9 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS AÇÚCARES DO SUCO DE YACON CONCENTRADO.	56
FIGURA 10 - CURVAS TG/DTG DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO 60:40 (e) PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO 70:30, (f) PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO 80:20.	63
FIGURA 11 - CURVAS DSC DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30, (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.....	64
FIGURA 12 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE EMISSÃO DE CAMPO (FEG - SEM) – AMPLIAÇÃO DE 750X. (A) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (B) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30, (C) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.	67

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PARÂMETROS E METODOLOGIAS PARA ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO SUCO CRIOCONCENTRADO.	40
TABELA 2 - ATIVIDADE DE ÁGUA DAS SOLUÇÕES SALINAS A 25°C.	49
TABELA 3 - MODELOS MATEMÁTICOS UTILIZADOS PARA AJUSTAR OS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO DE EQUILÍBRIO.	50
TABELA 4 - MÉDIAS DOS VALORES EM % DOS PARÂMETROS FÍSICO - QUÍMICOS DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ PARA AS DIFERENTES AMOSTRAS.	53
TABELA 5 - RESULTADO DA VALIDAÇÃO DE MÉTODO POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA QUANTIFICAÇÃO DE FOS E INULINA NO SUCO DE YACON CRIOCONCENTRADO.	54
TABELA 6 - CONTAGEM DOS LC-01 ANTES E APÓS O PROCESSO DE SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO.	57
TABELA 7 - SOBREVIVÊNCIA DOS LC-01 ÀS CONDIÇÕES DE HCL E SAIS BILIARES.	59
TABELA 8 - SOBREVIVÊNCIA DOS LC-01 ÀS CONDIÇÕES GÁSTRICAS SIMULADAS.	60
TABELA 9 - EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO APÓS DESINTEGRAÇÃO DAS AMOSTRAS.	61
TABELA 10 - PARÂMETROS TERMOGRAVIMÉTRICOS (TG/DTG) DE (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30 e (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.	62
TABELA 11 - PARÂMETROS TERMOGRAVIMÉTRICOS (TG/DTG) DE (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30 e (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.	65
TABELA 12 - RESULTADOS DSC PARA PARÂMETROS DE FUSÃO DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30, (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.	65

TABELA 13 - RESULTADOS DSC PARA PARÂMETROS DE DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE; (b) MALTODEXTRINA; (c) SUÇO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40; (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30; (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.	66
TABELA 14 - UMIDADE INICIAL DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ NAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AGENTES ENCAPSULANTES.....	67
TABELA 15 - APLICAÇÃO DOS MODELOS DE GAB, LANGMUIR E BET PARA AJUSTE DOS DADOS DE EQUILÍBRIO DE UMIDADE DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ.	69

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	–	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
HPLC	–	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
LC-01	–	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>L.b</i>	–	<i>Lactobacillus</i>
<i>B.b</i>	–	<i>Bifidobacterium</i>
GRAS	–	Geralmente reconhecidos como seguros
FOS	–	Frutooligossacarídeos
GF2	–	1-kestose
GF3	–	Nistose
GF4	–	Frutofuranosil-nistose
UFC	–	Unidade formadora de colônia
pH	–	Potencial hidrogeniônico
HCl	–	Ácido clorídrico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	16
2.1. OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS	17
3.1.1 Probióticos	18
3.1.1.2 <i>Lactobacillus</i>	19
3.1.1.3 Aplicações dos probióticos	20
3.1.2 Prebióticos	21
3.1.2.1 Frutooligossacarídeos	23
3.1.2.2 Aplicação dos oligossacarídeos na indústria de alimentos	26
3.1.3 Simbiótico.....	27
3.1.4 Yacon	28
3.1.4.1 Crioconcentração.....	30
3.2 MICROENCAPSULAÇÃO POR ATOMIZAÇÃO	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 MATÉRIA-PRIMA.....	37
4.2 MATERIAL DE PAREDE	37
4.3 PROCESSAMENTO PARA OBTENÇÃO DE SUCO DE YACON	37
4.4 PERCENTUAL DO CRIOCONCENTRADO	39
4.4.1 Eficiência da crioconcentração.....	40
4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SUCO CRIOCONCENTRADO DE YACON	40
4.6 OBTENÇÃO DA BIOMASSA DE LC-01	41
4.7 SPRAY DRYER	41
4.7.1 Encapsulação do suco de yacon crioconcentrado e <i>Lactobacillus casei</i> ..	41
4.8 ANÁLISES DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ	42
4.8.1 Caracterização físico-química	42
4.8.2 Análise de solubilidade.....	43
4.8.3 Análise de higroscopicidade.....	43
4.8.4 Atividade de água.....	43

4.9 ANÁLISE DOS CARBOIDRATOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	44
4.9.1 Validação do método analítico por CLAE	44
4.10 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR	45
4.11 AVALIAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA	46
4.12 SOBREVIVÊNCIA DO <i>LACTOBACILLUS CASEI</i> ÀS CONDIÇÕES DE HCL E SAIS BILIARES	46
4.12.1 Sobrevivência de <i>Lactobacillus casei</i> às condições gástricas simuladas	47
4.13 EFICIÊNCIA DA ENCAPSULAÇÃO	47
4.14 ANÁLISE TÉRMICA.....	47
4.14.1 Termogravimetria e Termogravimetria Derivada (TG - DTG)	48
4.14.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	48
4.15 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE FEIXE DE CAMPO DE ELÉTRONS (FEG)	48
4.16 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO	49
4.17 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 PERCENTUAIS DO CRIOCONCENTRADO E EFICIÊNCIA DA CRIOCONCENTRAÇÃO	52
5.2 PROCESSO DE SECAGEM POR <i>SPRAY DRYER</i>	52
5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE	54
5.3.1 Caracterização dos carboidratos por cromatografia líquida de alta eficiência	55
5.4 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR	56
5.5 AVALIAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA.....	58
5.6 SOBREVIVÊNCIA DO <i>Lactobacillus casei</i> ÀS CONDIÇÕES DE HCI E SAIS BILIARES.....	58
5.7 EFICIÊNCIA DA ENCAPSULAÇÃO	60
5.8 ANÁLISE TÉRMICA.....	61
5.9 MICROSCOPIA	66
5.10 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO	67
6 CONCLUSÕES	71

REFERÊNCIAS..... 72

ANEXOS 88

1 INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos funcionais vem apresentando crescimento nos últimos anos, tendo destaque nos mercados da Europa, Japão e Estados Unidos. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação (ABIA, 2012) em 2012 o faturamento foi de U\$\$ 150 milhões e deverá crescer 38% até 2017 para U\$\$ 207 milhões.

Nos países europeus a popularidade dos alimentos funcionais contendo probióticos é crescente e isto se deve aos avanços nas pesquisas em desenvolvimento de novos produtos, que resultaram na adição de probióticos, não só em produtos lácteos, mas também em bebidas, cereais e em produtos cárneos. Contudo, a viabilidade e a estabilidade destes microrganismos tem sido um desafio tecnológico (MATTILA-SANDHOLM, 2002).

De acordo com a ANVISA (2008), a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada entre 10^8 a 10^9 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo. Diversos efeitos benéficos à saúde são associados aos probióticos, tais como: regulação da microbiota intestinal, atividade anticarcinogênica, prevenção da osteoporose, redução do nível sérico de colesterol, modulação do sistema imune, alívio da constipação, tratamento de diarreia, entre outros (TRIPATHI & GIRI, 2014). Os microrganismos considerados probióticos são alguns *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, entre outros (ANVISA, 2008).

Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que benéficamente afetam o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de uma ou um número limitado de bactérias no cólon. Os mais promissores são os frutooligossacarídeos (FOS), inulina, oligofrutose, galactooligossacarídeos (GOS), transgalacto-oligossacarídeos (TOS) e lactulose (GAGGIA *et al.*, 2010; VALCHEVA & DIELEMAN, 2016).

O consumo de FOS e inulina contribui para a saúde do consumidor, pois estimulam o crescimento das bactérias benéficas naturalmente presentes ou ingeridas durante a alimentação (LACHMAN *et al.*, 2003; CAMPOS *et al.*, 2012). Os prebióticos também estimulam a movimentação peristáltica do intestino, reduzindo o tempo do trânsito intestinal, prevenindo a constipação, diminuindo o número de microrganismos indesejáveis e, por consequência, a formação de

compostos nitrogenados tóxicos, como o H_2S , compostos carcinogênicos e genotóxicos (GIBSON, 2004).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008) reconhece o frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina como prebióticos, e entre os alimentos que contém estas substâncias em sua composição destaca-se o yacon (*Smallanthus sonchifolius*), tubérculo originário dos Andes, mais conhecido como batata para diabéticos (SEMINÁRIO *et al.*, 2003; GRAEFE *et al.*, 2004), é cultivado no Brasil (mais expressivamente no estado de São Paulo) e comercializado em diversos outros estados nacionais.

O yacon é um alimento de alta perecibilidade, mesmo quando armazenado sob refrigeração (SHI *et al.*, 2013). Sucessivamente após a colheita, as raízes sofrem transformações químicas e bioquímicas, como a hidrólise dos FOS em açúcares simples, levando à redução de sua funcionalidade (GRAU & REA, 1997). Preservar a qualidade nutricional e aumentar o tempo de vida útil dos alimentos consiste em um desafio para as indústrias de alimentos, para que busquem constantemente processos eficazes para este fim (GRAEFE *et al.*, 2004).

Uma alternativa de conservação de alimentos perecíveis é a secagem, que têm como resultado principal o aumento da vida de prateleira devido à diminuição da atividade de água (FRANCO *et al.*, 2015). Neste contexto, a tecnologia de encapsulação por *spray dryer* é considerada um processo econômico e flexível, pois permite variação na matriz de encapsulação, como também possibilita a obtenção de partículas de baixa higroscopicidade (DZIEZAK, 1988; KOMATSU; BURITI & SAAD, 2008).

A secagem por *spray dryer* é influenciada por vários parâmetros tais como: velocidade do ar de secagem, temperatura, taxa de alimentação, concentração da amostra, propriedades termodinâmicas e reológicas e especificação do atomizador (KESHANI *et al.*, 2015).

Com base nas características do material a ser tratado no *spray dryer*, há a necessidade de se utilizar em conjunto, um agente encapsulante (também denominado material de parede), que atua na redução da termoplasticidade, higroscopicidade e viscosidade do pó obtido (KESHANI *et al.*, 2015). A adição de um emulsificante aumenta a viscosidade e o rendimento do produto quando processado em *spray dryer*. A maltodextrina é um amido hidrolisado muito utilizado como agente encapsulante. Porém, devido a sua baixa capacidade emulsificante, é

comum a sua utilização em conjunto com a goma arábica, amidos modificados ou até mesmo com algumas proteínas (REINECCIUS, 1989; CARNEIRO, 2011).

O soro de leite é uma fonte de proteínas que em conjunto com a maltodextrina pode ser aplicado como material de parede para a obtenção de produtos encapsulados. Este subproduto da indústria de laticínios é rico em lactose, e apresenta alta carga orgânica e nutricional (SLUKOVA *et al.*, 2016), tornando sua aplicação em processos alimentícios desejável e interessante (AIDER; HALLEUX & MELNIKOVA, 2009).

Um produto de base alimentícia na forma de pó, resultante da incorporação dos compostos prebióticos existentes no yacon e de microrganismos probióticos como *Lactobacillus casei* poderá apresentar alegações em propriedades funcionais e estabilidade de prateleira. Assim, a finalidade deste trabalho foi desenvolver um produto simbiótico em pó através da técnica do *spray dryer* (secagem por aspersão), levando em consideração a viabilidade da cultura *Lactobacillus casei* durante o processamento e armazenamento.

2 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um produto simbiótico em pó com yacon encapsulado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as condições adequadas e a proporção dos agentes encapsulantes no processo de secagem;
- Avaliar as condições de secagem sobre a viabilidade das células probióticas;
- Quantificar o teor de FOS e inulina no suco crioconcentrado de yacon e no produto simbiótico em pó;
- Verificar se as concentrações de FOS e inulina obtida no produto simbiótico em pó se inserem na classificação de alimento prebiótico;
- Determinar a viabilidade do *Lactobacillus casei* no produto simbiótico em pó após processo de secagem, durante tempo de armazenamento (vida de prateleira), em condições gástricas simuladas e verificar se esse produto se insere na classificação de alimento probiótico;
- Estudar as características morfológicas, térmicas e físico-químicas do suco crioconcentrado de yacon e do produto simbiótico em pó;
- Obter experimentalmente isotermas de sorção de umidade para o produto simbiótico em pó a 25 °C.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentado o estado da arte sobre os alimentos funcionais que surgiram no início dos anos 80 no Japão, a partir da preocupação com os problemas de saúde associados ao aumento da expectativa de vida da população. A maior parte dos trabalhos em termos de probióticos encontra-se voltada para produtos como leites fermentados e iogurtes, porém, a viabilidade e a estabilidade destes microrganismos tem sido um desafio tecnológico. Nas últimas décadas, com a descoberta da funcionalidade do yacon (*Smallanthus sonchifolius*), a maioria das pesquisas científicas realizadas está voltada em sua ação prebiótica. Contudo, o yacon é uma cultura sazonal, e é importante aumentar o tempo de vida útil e a disponibilidade deste alimento.

Neste contexto, a tecnologia por *spray dryer* é considerada um processo econômico e flexível. Há estudos sobre a microencapsulação por atomização em prebióticos e probióticos, mas até o presente momento esta técnica não foi aplicada no desenvolvimento de um produto simbiótico em pó de *Lactobacillus casei* e suco de yacon crioconcentrado.

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Alimento funcional, segundo a Portaria n° 15 de 30 de abril de 1999, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde no Brasil é definido como "todo alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica" (ANVISA, 1999).

Os componentes funcionais mais estudados atualmente são os antioxidantes, ácidos graxos insaturados, prebióticos e probióticos (AL-SHERAJI *et al.*, 2013; YASMIN *et al.*, 2015).

3.1.1 Probióticos

O termo probiótico foi primeiramente utilizado por Lilly e Stillwell, em 1965, para descrever microrganismos que desempenham atividades benéficas (BARBOSA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2002). Parker (1974) definiu probióticos como organismos e substâncias que contribuem para o balanço da microbiota intestinal e Fuller (1989) como suplemento alimentar que contém microrganismos vivos que afetam benéficamente o hospedeiro, a fim de melhorar o balanço da sua microbiota intestinal. Essas definições eram pouco satisfatórias, pois a palavra substância poderia incluir antibióticos, cuja função é oposta (PARKER, 1974; FULLER, 1989). O termo probiótico foi então definido por um Comitê Internacional como microrganismos vivos que, quando ingeridos em determinada quantidade, exercem efeitos benéficos à saúde, além da nutrição geral inerente (FAO/WHO, 2001).

De acordo com a ANVISA (2008), a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada entre 10^8 a 10^9 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo. É importante que as bactérias probióticas se mantenham em número elevado de células viáveis durante o tempo de prateleira até o seu consumo.

Os fatores que influenciam a viabilidade dos microrganismos probióticos em produtos alimentares, podem ser: parâmetros alimentares (pH, acidez titulável, o nível de oxigênio dissolvido, aromatizantes artificiais e agentes de coloração), parâmetros de processamento (tratamento térmico, temperatura de incubação, materiais de embalagem e os métodos de armazenamento), e microbiológicos (cepa utilizada e concentração do inóculo) (TRIPATHI & GIRI, 2014).

Diversos efeitos benéficos à saúde são associados aos probióticos, tais como: regulação da microbiota intestinal, controle de infecções intestinais, atividade anticarcinogênica, prevenção da osteoporose, melhor digestão de lactose em indivíduos intolerantes, redução do nível sérico de colesterol, modulação do sistema imune, alívio da constipação, tratamento de diarreia, entre outros (TRIPATHI & GIRI, 2014).

Os microrganismos considerados probióticos são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*,

Bifidobacterium bifidum, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (ANVISA, 2008).

3.1.1.2 *Lactobacillus*

O *Lactobacillus*, isolado pela primeira vez por Moro (1900) a partir das fezes de lactantes, foram chamados primeiramente de *Bacillus acidophilus* (designação genérica dos lactobacilos intestinais). Estes microrganismos são caracterizados geralmente como Gram-positivos, incapazes de formar esporos, desprovidos de flagelos, possuindo forma bacilar ou cocobacilar e aerotolerantes ou anaeróbios. O gênero compreende 56 espécies oficialmente reconhecidas (GOMES & MALCATA, 1999).

A divisão clássica dos *Lactobacillus* está baseada em suas características fermentativas: obrigatoriamente homofermentativos (fermentam glucose exclusivamente em ácido láctico e não fermentam pentoses ou gliconato); facultativamente heterofermentativos (fermentam hexoses em ácido-lático e podem produzir gás a partir de gliconato, mas não através da glucose - como também fermentam pentoses, através de uma fosfocetolase induzida para produzir ácidos láctico e acético) e, obrigatoriamente, heterofermentativos (fermentam hexoses em ácido láctico, ácido acético, dióxido de carbono e/ou etanol, sendo que a produção de gás a partir da glucose é uma das principais características dessas bactérias) (AXELSSON, 2004; BURITI & SAAD, 2007).

O *Lactobacillus casei* é um grupo que engloba as espécies *L. casei*, *L. paracasei* e *L. rhamnosus*. Essas espécies são bastante utilizadas pelas indústrias alimentícias, na produção de leites fermentados e também como culturas iniciadoras de processos fermentativos. O sistema enzimático (enzima peptidase) desenvolvido pelas bactérias deste grupo influencia diretamente no sabor do alimento (MARTINEZ-CUESTA *et al.*, 2001).

Este grupo também compreende bactérias lácticas fenotipicamente e geneticamente heterogêneas, aptas a colonizar vários ambientes naturais e ambientes criados pelo homem. São facultativamente heterofermentativas, ácidos tolerantes e têm sido amplamente estudadas com relação às suas propriedades promotoras de saúde (BURITI & SAAD, 2007). A temperatura ótima de crescimento

situa-se entre 27 a 40°C, sendo particularmente resistente à grandes variações de pH (BERGEY & HOLT, 1994; BRINK & TODOROV, 2006, PAROLO, 2009).

Para a utilização de culturas probióticas na tecnologia de fabricação de produtos alimentícios, além da seleção das cepas para uso humano, as culturas devem ser empregadas com base no seu desempenho tecnológico, promoverem propriedades sensoriais desejáveis no produto e ser estáveis e viáveis durante o armazenamento (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

3.1.1.3 Aplicações dos probióticos

Na última década, mais de 500 produtos alimentares probióticos foram introduzidos no mercado global, tais como: sucos de frutas, salames, presuntos, queijos e molhos a base de queijos, maioneses, iogurtes, sorvetes, entre outros (TRIPATHI & GIRI, 2014).

Gaiano *et al.* (2012) elaboraram um requeijão cremoso probiótico e avaliaram a viabilidade do *Lactobacillus casei*, assim como a composição físico-química do requeijão e a aceitação sensorial do produto. A composição físico-química não foi alterada pela adição do probiótico e a viabilidade manteve-se constante ao longo dos 28 dias de armazenamento na ordem de 10^7 UFC.g⁻¹. O requeijão probiótico apresentou boa aceitação sensorial e intenção de compra de 82% dos provadores, sendo considerado uma boa alternativa de produto lácteo probiótico.

Um estudo realizado com adição do probiótico *Lactobacillus acidophilus* em queijo branco mostrou que as cepas cresceram rapidamente durante os 7 dias de maturação, alcançando $10^9 - 10^{10}$ UFC (quantidade necessária para produzir benefícios a saúde e se designar o produto final como produto probiótico) (KASIMOGLU *et al.*, 2004).

Maruyama *et al.* (2006) avaliaram a adição das bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium longum*, em queijo *petit-suisse* e acompanharam a viabilidade dessas culturas durante 21 dias. As culturas probióticas mantiveram-se viáveis em concentrações apropriadas para todas as formulações estudadas até o último dia de armazenamento (superiores a 6 Log UFC.g⁻¹), sendo que os melhores resultados foram obtidos por *B. longum* (superiores a 7 Log UFC.g⁻¹).

Foram analisados iogurtes de leite de cabra contendo ou não *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. pseudolongum* ou *B. bifidum*, adicionados ou não de aroma de morango. A contagem de células de *Bifidobacterium* spp manteve-se entre 10^6 e 10^8 UFC/mL e não se diferiu das outras espécies, ao longo do tempo. O estudo mostrou ser possível a elaboração de iogurte de leite de cabra adicionado de *Bifidobacterium* spp e de aroma de morango, permitindo desenvolver um produto probiótico, ao longo de 40 dias de estocagem (MAZOCHI *et al.*, 2010).

Prado (2007) desenvolveu uma bebida fermentada à base de água de coco produzida com uma mistura de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium lactis* BFL-9. O rendimento máximo para a cultura mista foi alcançado em 8 horas de fermentação a 37 °C, com adição de 3% de inóculo. Ao final de 28 dias de armazenamento sob refrigeração, a porcentagem de morte celular foi baixa para os dois gêneros utilizados na fermentação. O número de células viáveis de *Lactobacillus* diminuiu, passando de $1,1 \cdot 10^9$ para $4,3 \cdot 10^8$ UFC.mL⁻¹. Para o *Bifidobacterium*, a viabilidade variou de $5,0 \cdot 10^7$ para $2,0 \cdot 10^7$ UFC. mL⁻¹.

Menezes (2011) desenvolveu formulações de bebida fermentada sabor cajá utilizando 20%, 30% e 40% de soro de leite e 15%, 20% e 25% de polpa de cajá. O inóculo foi preparado com culturas de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium bifidum*. A formulação contendo 40% de soro de leite e 25% de polpa de cajá apresentou médias maiores para todos os atributos avaliados no teste sensorial, assim como índice de aceitabilidade e intenção de compra. As células das bactérias probióticas mantiveram-se viáveis após 28 dias de armazenamento à temperatura de 4°C.

3.1.2 Prebióticos

Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que benéficamente afetam o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de uma ou um número limitado de bactérias no cólon. Os mais promissores são os frutooligossacarídeos (FOS), inulina, oligofrutose, galactooligossacarídeos (GOS), transgalacto-oligossacarídeos (TOS) e lactulose (GAGGIA *et al.*, 2010; VALCHEVA & DIELEMAN, 2016).

A principal ação dos prebióticos é estimular o crescimento e ativação do metabolismo de muitos grupos de bactérias benéficas no trato intestinal, atuando

de maneira associada com probióticos (RENHE *et al.*, 2008). Para que um composto tenha ação prebiótica, ele deve resistir aos processos digestivos, ser fermentado pelas bactérias presentes no trato intestinal e estimular seletivamente o crescimento e metabolismo das bactérias benéficas (como as bactérias láticas), entre elas, o *Lactobacillus* e *Streptococcus*, promovendo assim efeitos benéficos para o hospedeiro (SILVA, 2008; YASMIN *et al.*, 2015).

Para que uma substância ou grupo de substâncias possam ser definidos como prebióticos, ela deve formar parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas, ser parcialmente fermentada pelas bactérias presentes no colón e ser osmoticamente ativa (REIG & ANESTO, 2002). De acordo com a ANVISA (2008) a alegação de produto prebiótico pode ser utilizada desde que a porção do produto pronto para consumo, forneça no mínimo três gramas do prebiótico, caso o alimento seja sólido ou 1,5 gramas, caso o alimento seja líquido.

A maior parte dos prebióticos está no grupo das frutanas, similares estruturalmente à inulina. A inulina é um polissacarídeo complexo extraído comercialmente da raiz da chicória, que quando processada e transformada, gera os frutooligossacarídeos. Outros prebióticos são os galactooligossacarídeos, obtidos por síntese enzimática a partir de lactose, os oligossacarídeos obtidos de soja e os xilo-oligossacarídeos, obtidos por hidrólise química de xilanas e polidextroses (RENHE *et al.*, 2008; YASMIN *et al.*, 2015).

A semelhança entre os prebióticos deve-se a sua estrutura básica e a via metabólica que possuem em comum. O que diferencia estes compostos é o seu grau de polimerização. Os prebióticos, quando não são fermentados, são capazes de exercer um efeito osmótico no trato gastrointestinal, e quando fermentados, aumentam a produção de gases. O consumo elevado de prebióticos pode aumentar os riscos de ocorrência de diarreias, além de serem pouco tolerados por pacientes com síndrome do intestino irritável. Entretanto, o consumo adequado de prebióticos, equilibrado e em doses baixas é recomendado e contribui para a saúde do consumidor (SAAD, 2006; YASMIN *et al.*, 2015).

Os efeitos benéficos dos prebióticos se devem ao aumento do volume do bolo fecal, reduzindo o tempo do trânsito intestinal, prevenindo a constipação, diminuindo o número de microrganismos indesejáveis e, por consequência, a formação de compostos nitrogenados tóxicos, compostos carcinogênicos e

genotóxicos (GIBSON, 2004; AL-SHERAJI *et al.*, 2013; YASMIN *et al.*, 2015; SINGH *et al.*, 2016).

3.1.2.1 Frutooligossacarídeos

Os FOS estão incluídos entre os oligossacarídeos não digeríveis, sendo considerados ingredientes na maioria dos países. Nos Estados Unidos, por exemplo, são preconizados como GRAS (Generally Recognized as Safe). A primeira empresa a introduzir os FOS no mercado de alimentos foi a Meiji Seika Cia. do Japão em 1984 (YUN, 1996; PASSOS & PARK, 2003; SINGH *et al.*, 2016).

Esses oligossacarídeos podem ser obtidos a partir de dois métodos: por fermentação com células microbianas ou pela hidrólise da inulina presente em muitos alimentos de origem vegetal (RASTAL, 2010; PANESAR *et al.*, 2014; SINGH *et al.*, 2016). No primeiro método citado, eles são produzidos a partir da sacarose, utilizando a atividade de transfrutossilação da enzima β -frutofuranosidase, onde os frutooligossacarídeos formados neste processo contêm entre duas a quatro unidades β -(1 \rightarrow 2) de frutossil ligadas a um resíduo terminal de α -D-glucose (PANESAR *et al.*, 2014; BALI *et al.*, 2015). O segundo método utilizado para produção de frutooligossacarídeos se dá pela hidrólise enzimática controlada do polissacarídeo inulina (MUTANDA *et al.*, 2014), diferindo-se pelo tamanho da cadeia e a ligação entre as moléculas de açúcares, onde nem todas as ligações β -(1 \rightarrow 2) de frutossil estão ligadas ao resíduo terminal glucose, como mostrado na FIGURA 1 (CRITTENDEN & PLAYNE, 1996; ROBERFROID & VAN LOO; GIBSON, 1998).

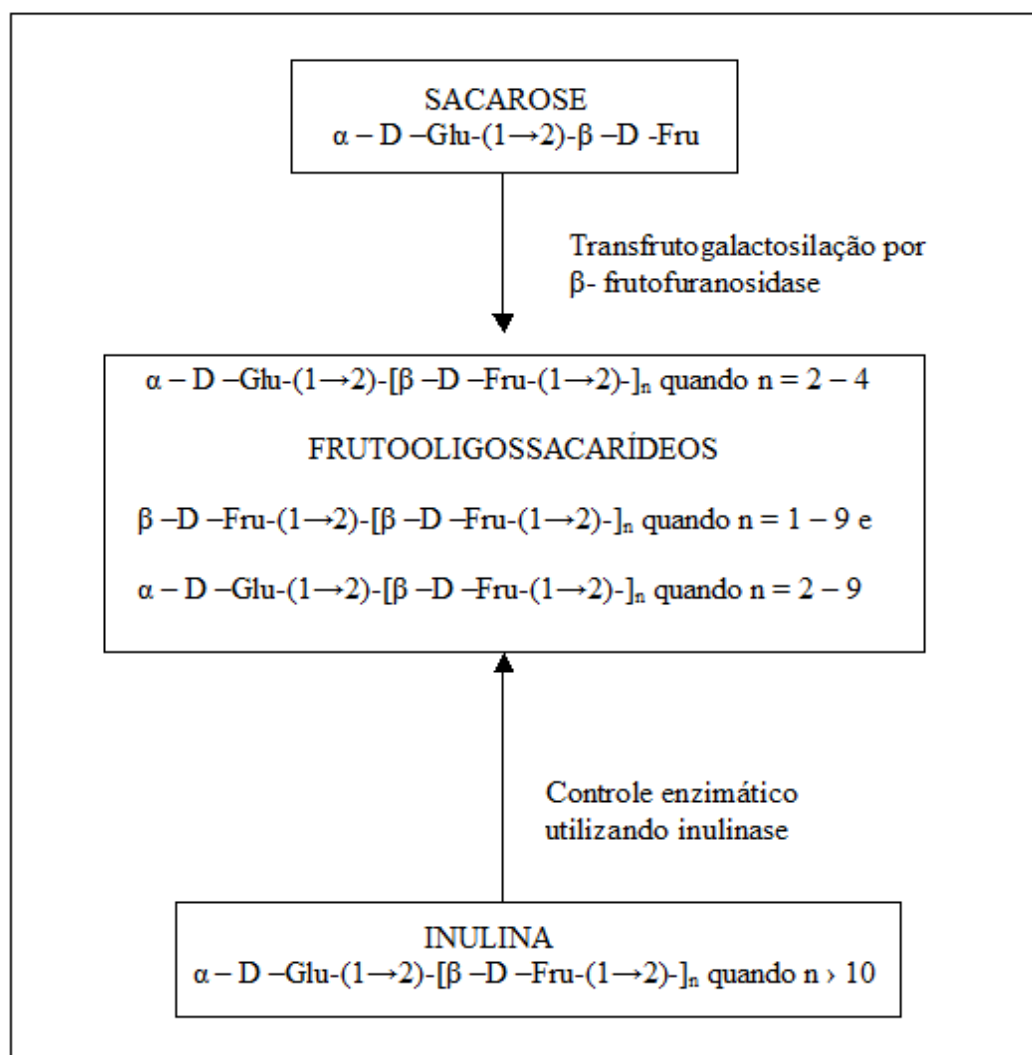


FIGURA 1 - PRODUÇÃO DE FOS POR SACAROSE E INULINA.
FONTE: Adaptado de CRITTENDEN & PLAYNE (1996).

Os frutooligossacarídeos podem ser do tipo 1^F e 6^G . Os compostos resultantes do primeiro tipo são chamados de 1-kestose (GF2), nistose (GF3) e frutofuranosil-nistose (GF4), que possuem unidades de frutose unidas por ligações do tipo β -2,1 (FIGURA 2). A inulina também possui este tipo de ligação, porém, possui grau de polimerização maior que 10, podendo chegar a 35. Embora não haja uma relação estabelecida entre o seu grau de polimerização e a nomenclatura, denomina-se inulina a molécula com grau de polimerização maior que 10 unidades e frutooligossacarídeos a molécula com grau de polimerização menor ou igual a 10 unidades (HARTEMINK; VAN LAERE & ROMBOUTS, 1997, VALADÃO, 2005; SINGH et al., 2016).

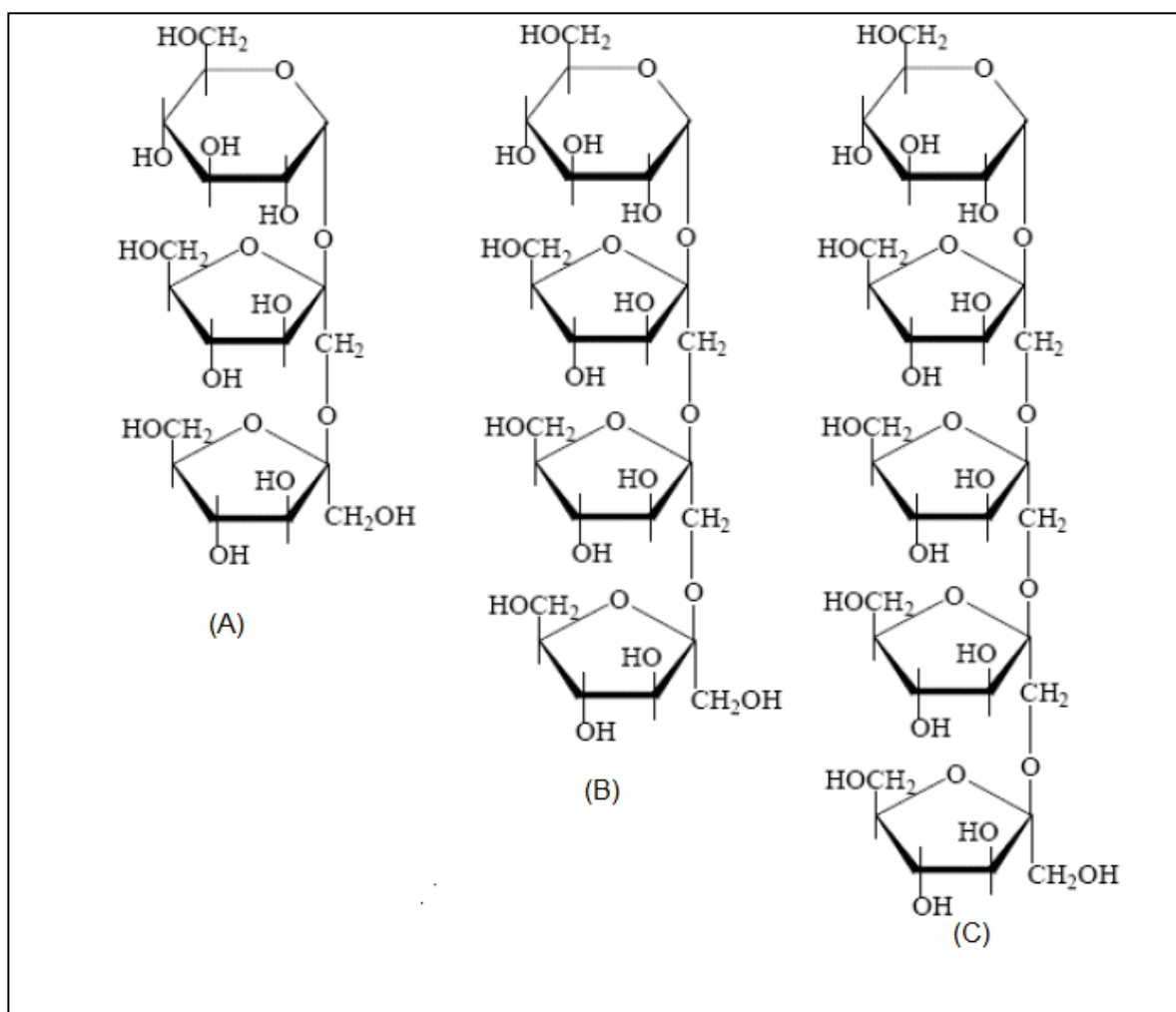


FIGURA 2 - FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DO TIPO 1 - KESTOSE (A), NISTOSE (B), FRUTOFU-RANOSIL NISTOSE (C).
FONTE: Adaptado de YUN (1996).

Já os oligossacarídeos do tipo 6^G, chamados de NeoFOS, podem possuir tanto unidades de frutose ligadas entre si por ligações β -1,2, como unidades de frutose ligadas ao carbono 6 da glucose (neokestose) e ao carbono 6 da frutose (6-kestose), conforme FIGURA 3 (STRAATHOF *et al.*, 1986; YUN & SONG, 1999; SINGH *et al.*, 2016).

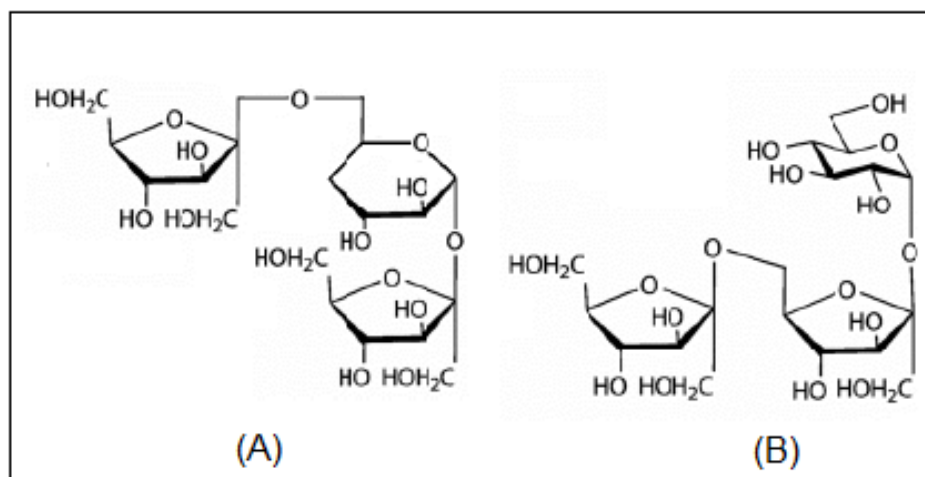


FIGURA 3 - FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DO TIPO 6G: NEOKESTOSE (A), 6-KESTOSE (B).
FONTE: Adaptado de VAN LAERE & VAN DEN ENDE (2002).

A inulina e o FOS estão presentes em muitos alimentos, como por exemplo: centeio, cevada, trigo, chicória, alho, cebola, banana, alcachofra de Jerusalém, yacon, entre outros. Para algumas das fontes como centeio e cevada, as concentrações de inulina e FOS estão entre 0,5 e 1,5% respectivamente, do seu peso fresco. Entretanto, para alcachofra de Jerusalém e yacon, as concentrações destes oligossacarídeos podem chegar a 19% do seu peso fresco (HAULY & MOSCATTO, 2002; KAUR & GUPTA, 2002; SINGH *et al.*, 2016).

De acordo com Niness (1999) a inulina e os frutooligossacarídeos se diferenciam pelo grau de polimerização (DP), sendo dependente da fonte, tempo de colheita e processo de produção (MORRIS & MORRIS, 2012). No entanto, Silva (1996) classifica a inulina como um frutooligossacarídeo, já que estes são definidos como polímeros de D-frutose, terminando com uma molécula de glucose.

3.1.2.2 Aplicação dos oligossacarídeos na indústria de alimentos

Os oligossacarídeos, quando presentes, podem melhorar algumas características do produto final. São solúveis em água, levemente doces e apresentam 0,3 a 0,6 vezes a doçura da sacarose. Este baixo poder adoçante é dependente da estrutura química e massa molecular dos oligossacarídeos e da concentração de mono e dissacarídeos na mistura. O baixo poder adoçante é favorável na produção do alimento quando a matriz com reduzida doçura é desejável para evidenciar outros sabores. Quando comparado com mono e

dissacarídeos, a maior massa molecular dos oligossacarídeos promove uma elevação da viscosidade, aumentando o corpo e a sensação do alimento na boca (CRITTENDEN & PLAYNE, 1996).

Os oligossacarídeos também podem ser utilizados para alterar a temperatura de congelamento de alimentos e reduzir a ocorrência da reação de Maillard, pois os galactooligossacarídeos obtidos não atuam como açúcares redutores. Eles também fornecem uma elevada capacidade de retenção de umidade, impedindo uma secagem excessiva, e ao mesmo tempo possuindo uma baixa atividade de água, que é adequado no controle da contaminação microbiana. Por não serem utilizados pela microbiota, não ocorre a produção de compostos cariogênicos, e então, são utilizados como substitutos do açúcar cariogênico em doces, gomas de mascar, iogurtes e bebidas (MUSSATTO & MANCILHA, 2007; MARTINS & BURKERT, 2009).

A inulina, após a secagem, apresenta-se como um pó branco, amorfo e muito higroscópico. Em solução, aumenta o ponto de congelamento e diminui o ponto de fusão da água, possibilitando a formação de um gel com característica cremosa, sendo muito utilizado como substituto da gordura em vários produtos como bolos, chocolates, embutidos e produtos cárneos (MORRIS & MORRIS, 2012). Já os frutooligossacarídeos (FOS), como possuem uma cadeia molecular menor, se solubilizam melhor na água e possuem propriedades similares aos xaropes de glucose e sacarose. São utilizados em produtos lácteos e em produtos de panificação para melhorar a umectância (MORRIS & MORRIS, 2012), em sobremesas congeladas para diminuir o ponto de congelamento, em biscoitos com baixo teor de gordura para oferecer crocância, em barras nutricionais de granola para agir como aglutinante e também são utilizados adicionalmente com adoçantes, para mascarar o sabor residual do produto (HAULY & MOSCATTO, 2002).

3.1.3 Simbiótico

A palavra simbiótico refere-se à sinergia e é utilizado para produtos em que o prebiótico favorece seletivamente o probiótico. Um produto contendo oligofrutose e bifidobactérias cumprem esta definição (SCHREZENMEIR & VRESE, 2001). A interação entre o probiótico e prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma

adaptação do probiótico através do consumo de prebiótico. Isto deve resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico se este for consumido juntamente com o prebiótico (SILVA, 2007).

De acordo com Peña (2007), a justificativa do uso de simbióticos é baseada em observações que mostram a melhora da sobrevivência das bactérias probióticas durante o trânsito, através do trato digestivo superior. O estímulo ao crescimento de probióticos e das bactérias da microbiota intestinais ajuda a manter a homeostase do corpo e a saúde intestinal.

O trabalho conduzido por Rafter *et al.* (2007), teve como objetivo verificar se o uso de simbióticos oligofrutose e inulina - SYN1 (composto de 95% de frutanos e 5% de monossacarídeos e dissacarídeos além de 5% de umidade) + *Lactobacillus rhamnosus* GG – LGG + *Bifidobacterium lactis* Bb12 reduziria o risco de câncer de cólon em humanos. Os resultados mostraram que os simbióticos alteraram a microbiota fecal, aumentando a contagem de bifidobactérias e de lactobacilos e levaram à redução de *Clostridium perfringens*. A intervenção também reduziu significativamente a proliferação das células neoplásicas, concluindo que o câncer colo-retal pode ser alterado favoravelmente pela intervenção de simbiótico.

Gonçalves (2009) desenvolveu um queijo tipo *quark* desnatado simbiótico utilizando inulina e três diferentes probióticos: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* (Bb12) e *Lactobacillus delbrueckii*. Após 25 dias de estocagem sob refrigeração, a contagem dos microrganismos manteve-se elevada, em torno de 10^6 UFC.g⁻¹, e os probióticos não promoveram diferenças nas características físico-químicas, reológicas e sensoriais do queijo.

Moura e colaboradores (2012) investigaram o efeito do extrato de yacon seco com *Lactobacillus casei* na dieta de ratos durante quatro semanas. Observou-se que a ingestão da formulação simbiótica, pode reduzir o desenvolvimento de câncer de cólon. O estudo feito por Almeida *et al.* (2015) aponta que após 5 meses de consumo do extrato de yacon combinado com *Lactobacillus acidophilus*, ocorreu a diminuição da incidência de tumores de câncer de cólon em ratos.

3.1.4 Yacon

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) era classificado botanicamente como *Polymnia*, mas estudos de Robinson (GRAU & REA, 1997) estabeleceram o gênero

Smallanthus. É uma espécie pertencente à família *Asteraceae*, caracterizada como uma planta herbácea de clima tropical de altitude, natural da região andina, que é tida como uma região rica quanto à variedade de raízes e tubérculos comestíveis (ZARDINI, 1991).

A origem do nome yacon vem da língua indígena Quéchuá, que significa *yakku*= insípido e *unu* = água, sendo conhecido popularmente por diferentes nomes dependendo do país, tais como: *Ilacon* na Argentina, *arboloco*, *jiquimae* *jiquimilla* na Colômbia, *leafcup* e *yacón* na Inglaterra, *yacon*, *yacuma*, *jícama* na Espanha, *aricoma* no Peru e Bolívia, *jiquima* e *jiquimilla* na Venezuela, *poir de terre* na França, *yaconstrawberry* nos Estados Unidos e *polimnia* na Itália (ZARDINI, 1991).

A planta atinge entre 1,5 e 3,0 metros de altura e o sistema radicular é composto por 4 a 20 raízes tuberosas, pesando cerca de 200-500 g com sabor adocicado e polpa crocante, semelhante ao sabor da pêra (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989; OHYAMA *et al.*, 1990; ARAJARA, 1999). Para consumo, as raízes são expostas à luz solar durante alguns dias para aumentar a sua doçura. Este procedimento conduz à hidrólise parcial de oligofrutos, originando grandes quantidades de açúcares redutores (frutose, glucose) e sacarose (GRAU & REA, 1997). Entretanto, destinada - se ao consumo por diabéticos ou para obtenção de FOS e inulina deve ser processada e consumida rapidamente (SILVA, 2007).

Um conjunto de características vantajosas faz com que o yacon se sobressaia dos demais tubérculos, como por exemplo, sua alta produtividade, adaptabilidade a uma grande variedade de climas e solos, controle da erosão, qualidades excepcionais para dietas de baixa caloria, propriedades medicinais, entre outras (GRAU & REA 1997).

Segundo Grau e Rea (1997) o percentual de água das raízes situa-se em torno de 70 a 93% do peso fresco; cinzas 0,3 – 2,0; proteínas 0,4 – 2,0; lipídeos 0,1 -0,3 e fibras 0,3 – 1,7. Quantidades significativas de potássio estão presentes nas raízes, que podem variar de 1- 2% do peso seco (SEMINÁRIO & VALDERRAMA, 2005).

Diferente da maioria dos tubérculos e raízes que armazenam seus carboidratos em forma de amido, o yacon armazena inulina (3-10%) e frutooligossacarídeos como carboidratos de reserva (ROBERFROID & SLAVIN,

2000; LACHMAN *et al.*, 2003; VILLEGAS & COSTELL, 2007; DELGADO *et al.*, 2013), sendo os principais componentes dos FOS do yacon 1-kestose, nistose e 1-frutofuranosilnistose (YUN, 1996; MOSCATTO *et al.*, 2006).

Assim, a principal funcionalidade apresentada pelo yacon é o seu potencial prebiótico. Em pesquisa conduzida por Souza *et al.* (2015), foi possível concluir que a farinha de yacon possui compostos que são facilmente metabolizados e podem estimular o crescimento de bactérias benéficas, provando o seu potencial como um prebiótico. Campos *et al.* (2012) testaram o efeito prebiótico do yacon *in vivo* e concluíram que uma dieta rica em FOS promoveu o crescimento das Bifidobactérias e *Lactobacillus*, resultando em níveis elevados de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), sendo indicativo de benefícios para a saúde do cólon.

Em pesquisa conduzida por Dionísio *et al.* (2015), foi realizado estudo *in vivo* com uma bebida composta por yacon e pedúnculo de caju, sendo relatados resultados positivos no crescimento de *Lactobacillus*.

Estudos relatam que o yacon também apresenta atividade antioxidante (OJANSIVU *et al.*, 2011). Souza *et al.* (2015), investigaram as propriedades antioxidantes na farinha de yacon, sendo encontrados ácido clorogênico, caféico e o aminoácido triptofano.

Os frutooligossacarídeos do yacon apresentam estabilidade térmica na faixa de pH da maioria dos alimentos (4 a 7), em temperaturas de até 140°C. Sendo assim, não são degradados por grande parte dos processos térmicos empregados nas indústrias de alimentos (NITSCHKE & UMBELINO, 2002).

O yacon é um alimento de alta perecibilidade, mesmo quando armazenado sob refrigeração (SHI *et al.*, 2013). A microencapsulação por atomização é um processo eficaz para aumentar o tempo de vida útil do suco de yacon, que além de preservar a qualidade nutricional, agrega valor ao alimento.

3.1.4.1 Crioconcentração

A crioconcentração é uma tecnologia que promove a concentração de produtos alimentares, através do congelamento e subsequente separação de uma parte da água congelada, a partir de um produto líquido. Este processo, aplicado a sucos de frutas, desperta interesse na indústria de alimentos por preservar os compostos voláteis, a cor e o valor nutricional do alimento (BELÉN *et al.*, 2012).

Durante o congelamento a água transforma-se em gelo puro, aumentando a concentração dos solutos na fase líquida devido a quantidade decrescente de água disponível como solvente (HORVÁTH- KERKAI, 2006; REID; FENNEMA, 2010). Devido a essa característica, os alimentos não congelam a uma temperatura fixa e sim em uma faixa de temperatura. A maioria dos alimentos começa a congelar a temperatura de -1°C a -3°C , sendo que a maior mudança de fase ocorre na faixa de -4°C a -10°C . É considerado o congelamento completo dos alimentos somente em temperaturas abaixo de -40°C (SINGH e SARKAR, 2005).

Há diferentes métodos para a aplicação da tecnologia de crioconcentração, tais como o método de cristalização por suspensão, progressiva e blocos. A crioconcentração em blocos vem sendo relatada como promissora e eficaz à obtenção de produtos alimentícios com maior valor nutritivo e com maior preservação das propriedades sensoriais (MORENO *et al.*, 2014).

Na indústria alimentícia, a crioconcentração tem sido empregada na concentração de caldo de cana (RANE e UPHADE, 2016), suco de laranja (SÁNCHEZ *et al.*, 2010); sucos de maçã e pêra (HERNANDEZ *et al.*, 2009), extratos de erva mate e café (BOAVENTURA *et al.*, 2013, MORENO *et al.*, 2014), em soro de queijo, entre outros (SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

3.2 MICROENCAPSULAÇÃO POR ATOMIZAÇÃO

A secagem por atomização é um processo que tem sido amplamente utilizada na microencapsulação de ingredientes alimentares sensíveis à deterioração por agentes externos, tais como extrato de frutas e vegetais, carboidratos, microrganismos probióticos, entre outros (KRISHNAIAH *et al.*, 2014).

Uma das principais vantagens deste método de secagem é a produção de partículas de tamanho microns até nano. Quando a suspensão consiste em nanopartículas coloidais (partículas primárias), as partículas resultantes são constituídas por nanopartículas que formam um pó nanoestruturado. Para construir e criar partículas com uma morfologia controlável, é importante compreender os mecanismos e as regulações dos parâmetros iniciais de matéria-prima e de condição de processo quando se utiliza o método de secagem por atomização (NANDIYANTO E OKUYAMA, 2011).

A técnica do *spray dryer* é considerada um processo econômico e flexível, pois oferece variação na matriz de encapsulação e produz partículas de baixa higroscopicidade (DZIEZAK, 1988). É uma tecnologia amplamente utilizada para transformar alimentos líquidos ou suspensões em pó. Formam-se cápsulas fechadas que podem liberar seu conteúdo em velocidade controlada sob influência de condições específicas (VEGA *et al.*, 2006).

As cápsulas podem ser classificadas por tamanho, sendo: micro (1-1000 μm) ou nanocápsulas ($<0,2\mu\text{m}$) (BAKER, 1986). São formadas por um núcleo interno (podendo ser mononuclear ou polinuclear), por uma membrana de revestimento, agente encapsulante ou material de parede (SUAVE *et al.*, 2006).

Shahidi e Han (1993) classificaram a encapsulação por *spray dryer* em quatro estágios: preparação da dispersão ou da emulsão, homogeneização da dispersão, atomização da emulsão e desidratação das partículas atomizadas.

A operação inicia-se com a alimentação e aquecimento do ar de secagem. Quando a temperatura desejada é atingida, inicia-se a alimentação da amostra, contendo o material de parede responsável pelo revestimento do composto de interesse. Na presença de ar quente, a umidade da amostra é removida por evaporação, devido a alta temperatura de exposição. O ar de secagem sai pela parte inferior do equipamento, em temperatura que pode variar de 60 a 100°C. A recuperação do pó seco acontece por meio da força de gravidade, que é levado para o ciclone (KRISHNAIAH *et al.*, 2014; KESHANI *et al.*, 2015). Um diagrama esquemático de um *spray dryer* pode ser visualizado na Figura 4.

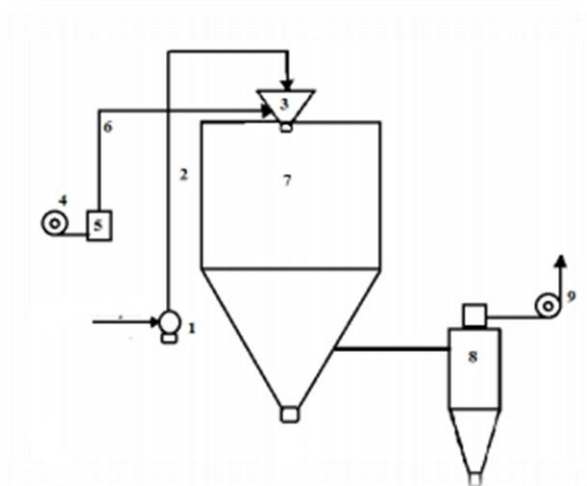


FIGURA 4- DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA CONFIGURAÇÃO DE UM *SPRAY DRYER*. (1: BOMBA DE ALIMENTAÇÃO, 2: CIRCUITO DE ALIMENTAÇÃO, 3: ATOMIZADOR, 4: VENTILADOR DE AR DE ENTRADA, 5: AQUECEDOR DE AR, 6: CANALIZADOR DE AR QUENTE, 7: CAMARA DE SECAGEM, 8: CICLONE, 9: VENTILADOR DE AR DE SAÍDA). FONTE: Adaptado de Silveira *et al.* (2013).

A secagem por *spray dryer* é influenciada por vários parâmetros tais como: velocidade do ar de secagem, temperatura, taxa de alimentação, concentração da amostra, propriedades termodinâmicas e reológicas e especificação do atomizador (KESHANI *et al.*, 2015).

A seleção do material de parede é uma das etapas mais importantes no processo de microencapsulação, uma vez que o tipo de material utilizado influencia tanto na estabilidade da emulsão antes da secagem, quanto na capacidade de proteção do produto em pó. A seleção desse material é baseada principalmente em propriedades físico-químicas como: solubilidade, massa molecular, transição vítrea, cristalinidade, propriedades de difusão, formação de filme e emulsificação. Além disso, o material de parede deve ser capaz de liberar completamente o solvente (ou outro material que será usado durante o processo de encapsulação), ser solúvel em solventes utilizados na indústria de alimentos, apresentar boa disponibilidade no mercado e apresentar baixo custo (DESAI & PARK, 2005; GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

A microencapsulação é realizada com biopolímeros de diferentes origens, assim como gomas naturais (goma arábica, alginatos, carragenas, etc.), proteínas (proteínas do soro ou do leite, gelatinas, etc.), maltodextrinas com diferentes dextroses equivalentes e ceras (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

A maltodextrina é um amido hidrolisado muito utilizado na microencapsulação de ingredientes alimentícios, pois oferecem vantagens, tais como: baixo custo, aroma e sabor neutro e baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos. O maior problema da utilização desse material de parede, no entanto, é sua baixa capacidade emulsificante (REINECCIUS, 1989). É comum a utilização de misturas de maltodextrinas com goma arábica, amidos modificados ou proteínas, suprimindo a falta dessa propriedade auxiliando na encapsulação do ingrediente (CARNEIRO, 2011).

Na literatura, são encontrados trabalhos que abordam várias aplicações do *spray dryer* no que se refere à encapsulação de microrganismos (PAÉZ *et al.*, 2012; YING *et al.*, 2012; DUONGTHINGOC *et al.*, 2013; PINTO *et al.*, 2015), sucos de vegetais e frutas (VERMA & SINGH, 2013) como abacaxi (ABADIO *et al.*, 2004), melancia (QUEK *et al.*, 2006), açaí (TONON *et al.*, 2008), goiaba (OSORIO *et al.*, 2011), encapsulação de amido de banana verde (IZIDORO *et al.*, 2011) e óleo de linhaça (CARNEIRO, 2011).

Golowczyc *et al.* (2011) estudaram as lesões causada pelo processo de *spray dryer* em *Lactobacillus* spp., isolado a partir de grãos de kefir e seu efeito sobre as suas propriedades probióticas. Os peletes de células obtidos foram ressuspensos em leite desnatado em pó reconstituído (11% m/v). Cada amostra foi seca por pulverização em um aparelho de escala piloto cujas condições foram: temperatura do ar de saída de 70°C, temperatura de ar de entrada de 160°C e pressão de 3 bars. Os resultados mostraram que estas cepas tiveram boas resistências à microencapsulação, apresentando uma ligeira redução de viabilidade, mas não deixando de serem classificadas como probióticas, tendo como finalidade para estes pós aplicações em alimentos funcionais.

Rajam *et al.* (2015) utilizaram diferentes materiais de parede tais como frutooligossacarídeos (FOS) em combinação com proteína isolada de soro de leite (WPI) ou proteína isolada de soro de leite desnatado (DWPI) na proporção 1:1 (m/m) e 1:5 (m/m) para a microencapsulação de *Lactobacillus plantarum*. Foram avaliadas a combinação de material e proporção, eficiência de encapsulação, a estabilidade e a viabilidade das células durante o armazenamento e as condições gástricas simuladas. O aumento da proporção não influenciou a morfologia das microcápsulas e a combinação de FOS e DWPI na proporção 1:1 (m/m) como material de parede foi considerado mais eficaz em manter a viabilidade das

bactérias após a secagem, durante o armazenamento e em condições gástricas e intestinais simuladas. Assim, a produção destas microcápsulas de simbióticos pelo método de secagem por pulverização se apresenta com potencial aplicação na indústria de alimentos funcionais.

Estudos avaliando a sobrevivência de *Lactobacillus casei* microencapsulado por *spray dryer* sob condições gastrointestinais simuladas foram realizados por Dimitrellou *et al.* (2016). Após os testes *in vitro* o número de células se manteve acima do mínimo exigido para conferir efeito probiótico.

Paim *et al.* (2016) produziram um suco probiótico de jussara em *spray dryer* e utilizaram 4 formulações diferentes de material de parede: maltodextrina, maltodextrina + inulina, maltodextrina + oligofrutose, maltodextrina + inulina + oligofrutose. Para todas as formulações a contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* spp. *Lactis* foi acima de 6,0 Log UFC/ g, sendo considerado um suco com potenciais benefícios para a saúde humana.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados na Usina Piloto B e no laboratório de Análise de Alimentos, do Departamento de Engenharia Química, no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná – UFPR, Campus de Curitiba.

O fluxograma (Figura 5) fornece uma visão geral sobre a execução do projeto

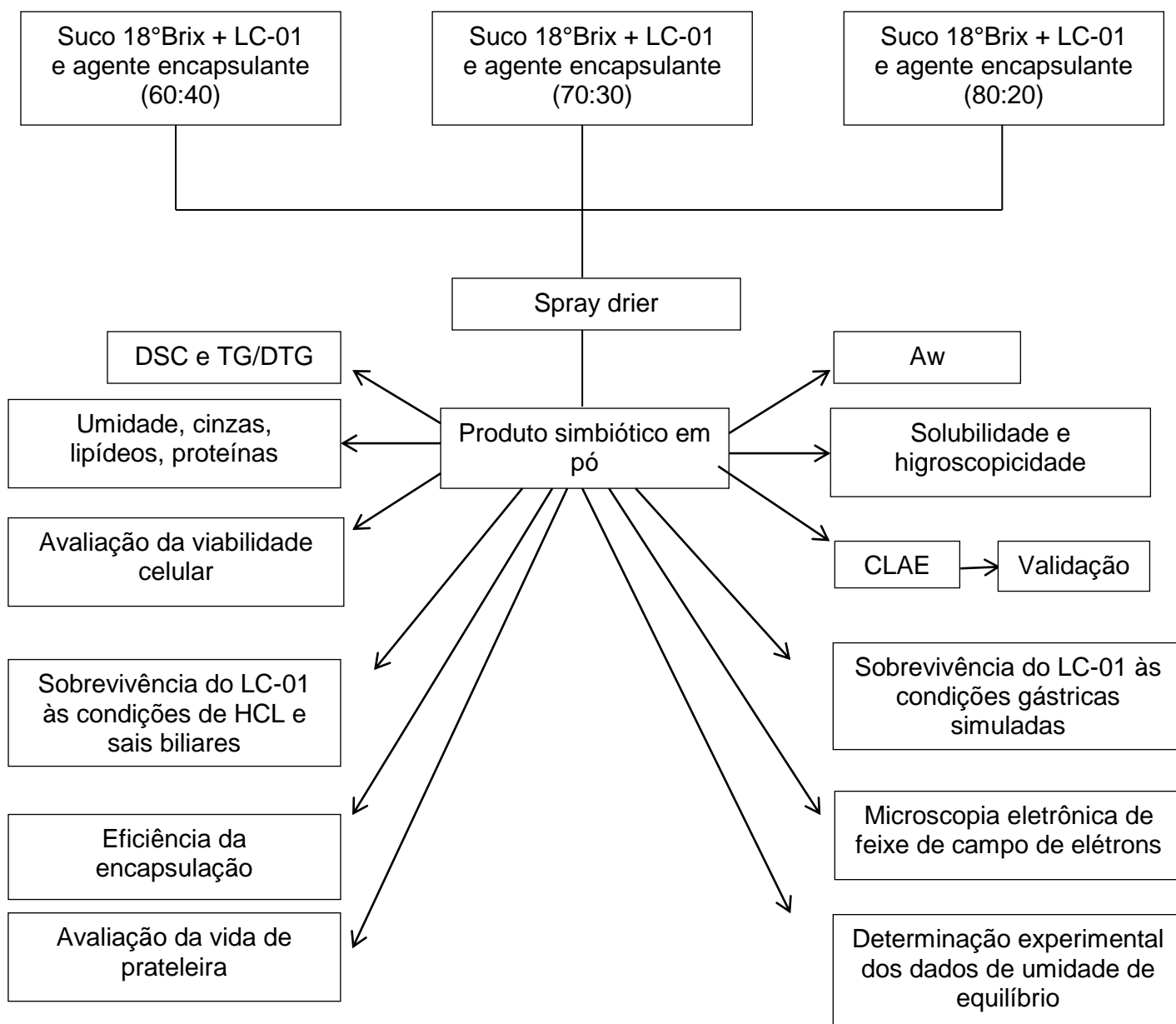


FIGURA 5 - FLUXOGRAMA GERAL DA EXECUÇÃO DOS EXPERIMENTOS
FONTE: O autor (2016).

4.1 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizadas, neste estudo, raízes de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) cultivada no estado de São Paulo, Brasil, adquiridas no mês de maio de 2015 do Centro de abastecimento do Paraná – CEASA, localizado da cidade de Curitiba – Paraná. As raízes foram selecionadas e estocadas a 10°C por 24 horas.

4.2 MATERIAL DE PAREDE

Como material de parede (agente encapsulante) foi utilizado maltodextrina (DE 20 MOR-REX®1920) oriunda da *Corn Products*, e soro de leite concentrado em pó, cedida pela empresa Sooro – Concentrado Indústria de Produtos Lácteos – Ltda. A composição físico-química do material de parede está apresentada no Anexo I.

O microrganismo probiótico utilizado foi o *Lactobacillus casei* (LC-01) da Christian Hansen® (Valinhos, São Paulo, Brasil).

4.3 PROCESSAMENTO PARA OBTENÇÃO DE SUCO DE YACON

O processamento para obtenção do suco de yacon foi realizado nos laboratórios do CTA – Centro de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

As raízes de yacon foram selecionadas, pesadas, lavadas, descascadas manualmente e fatiadas em um microprocessador (Metvisa, Brusque SC, Brazil). Em seguida, as fatias foram branqueadas em solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (0,2%) durante 1 hora, à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) para inativar enzimas e evitar o escurecimento enzimático. Após drenagem por meio de peneiras, as fatias foram colocadas em processador de alimentos, adicionando-se 0,03% (g/100mL de extrato) de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ e trituradas durante 2 minutos em velocidade máxima (NISHI, 2012). O material foi transferido para um funil para ser filtrado em filtro de nylon (Bag, 300 micras). Após esgotamento do extrato, o resíduo passou por lavagem em água destilada a temperatura ambiente para lixiviação dos carboidratos ainda contidos nos restos do material celular (JAY, 2005). Para finalizar e buscando

aumentar o rendimento, o resíduo foi prensado (pressão de 3 kgf/cm²) durante 5 minutos (Eureka Prensa hidráulica, Hoppe Ind. Ltda., Brasil).

O suco obtido passou pelo processo de crioconcentração. Distribuiu-se 700 mL de suco de yacon em formas de alumínio de 40 cm x 20 cm, as quais foram sobrepostas e intercaladas com folha de polipropileno de 1,0 cm e condicionadas em ultrafreezer a -80°C. Após 24 horas, o produto congelado foi fracionado em pedaços regulares de aproximadamente 5 cm e então foram transferidos para recipiente de tecido (*cheese cloth*) e centrifugado a 2800 rpm (WAMKE, Centrífuga Cônsul) até cessar a saída de suco da centrífuga, separando-se dessa forma, o gelo do suco crioconcentrado (WIECHETECK *et al.*, 2005). O suco crioconcentrado foi acondicionado em garrafa de plástico e congelado na temperatura de -18°C até o momento das análises.

A FIGURA 6 ilustra o fluxograma do processamento para obtenção de suco crioconcentrado de yacon.

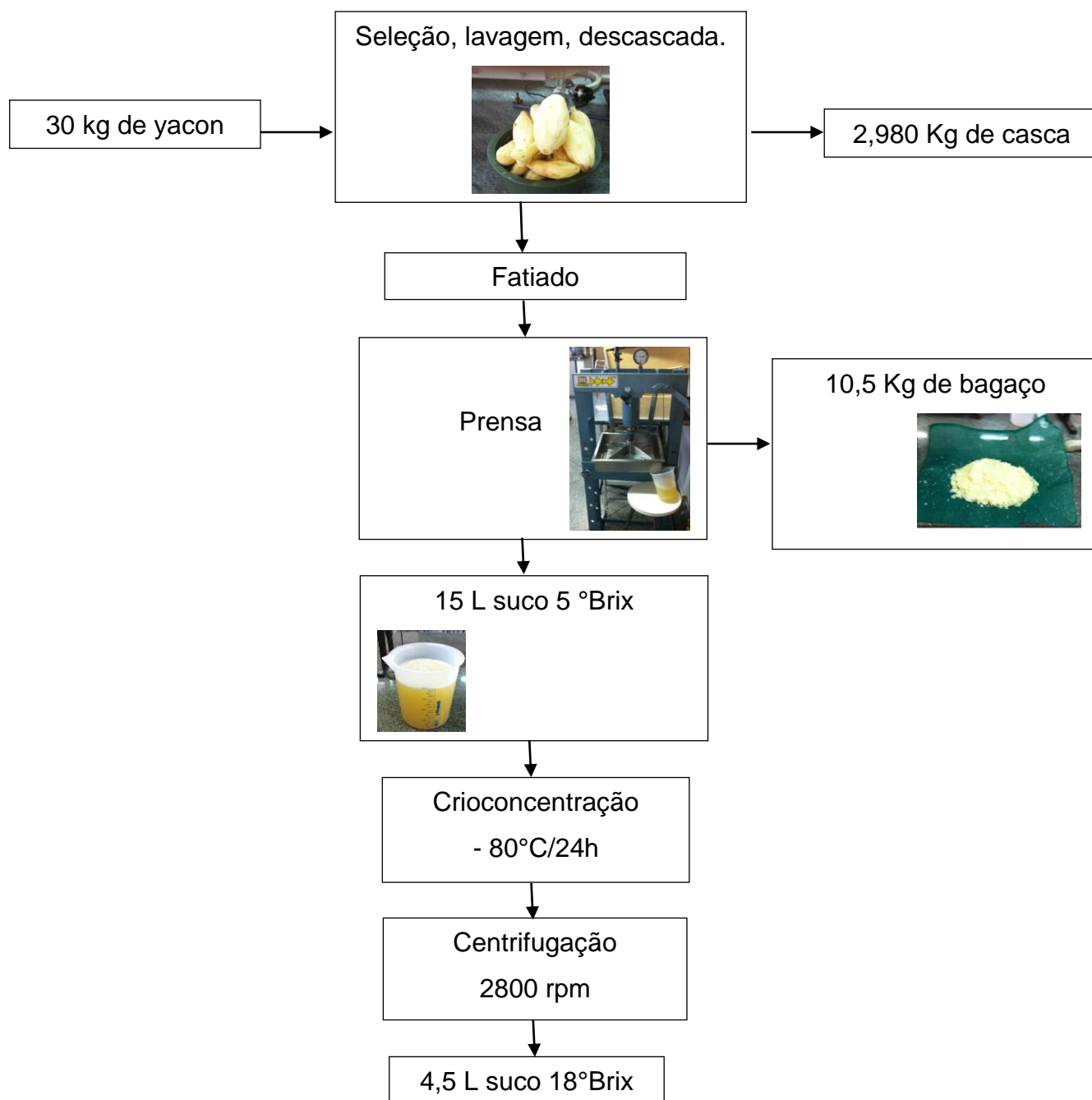


FIGURA 6 - PROCESSO PARA OBTENÇÃO DO SUCO CRIOCONCENTRADO DE YACON.

4.4 PERCENTUAL DO CRIOCONCENTRADO

O percentual do crioconcentrado representa a evolução no tempo da remoção da solução a partir da fase congelada. Este percentual foi calculado utilizando a Equação 1: (PETZOLD & AGUILERA, 2013).

$$PC(\%) = \frac{(w_i^0 - w_i^f) \cdot 100}{w_i^0} \quad (1)$$

Onde W_i^0 e W_i^f são o peso inicial e final do suco de yacon crioconcentrado, respectivamente.

4.4.1 Eficiência da crioconcentração

A eficiência de cada execução de crioconcentração foi definida como o aumento na concentração da solução em relação à quantidade de açúcar remanescente na fração congelado. A Equação 2 foi utilizada para calcular a eficiência: (PETZOLD & AGUILERA, 2013).

$$\eta(\%) = \frac{(C_s - C_f) \cdot 100}{C_s} \quad (2)$$

Onde: C_s e C_f são as concentrações de sólidos solúveis (°Brix) antes e após o processo de crioconcentração do suco de yacon, respectivamente.

4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SUCO CRIOCONCENTRADO DE YACON

Os parâmetros avaliados para a caracterização físico-químicas do suco foram pH, sólidos solúveis (°Brix), umidade, cinzas, lipídeos e proteínas totais, conforme metodologias apresentados na Tabela 1. Os resultados estão apresentados no Anexo II.

TABELA 1 - PARÂMETROS E METODOLOGIAS PARA ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO SUCO CRIOCONCENTRADO.

DETERMINAÇÃO	DESCRIÇÃO	MÉTODO
Umidade	Termogravimetria Estufa 105°C/ 24h	925.09 da AOAC (2000)
Cinzas	Termogravimétrico Calcinação: Mufla 550°C/ 24h	923.03 AOAC (2000).
Lipídios	Extração em Soxhlet	968.20 da AOAC (1997)
Sólidos Solúveis °Brix	Refratômetro digital (ATAGO N-1)	932.12da AOAC (2002).
pH	Potenciômetro 25°C Marconi (PA 200)	13.010 da A.O.A.C.(1984).

FONTE: O autor (2016).

4.6 OBTENÇÃO DA BIOMASSA DE LC-01

A cultura liofilizada de *Lactobacillus casei* (LC-01) foi ativada por inoculação de 0,2 g em 5 mL de caldo MRS (HIMEDIA®) à 37°C por 24 horas sob condições microaerófilas. Decorrido este tempo, 1% (v/v) do inóculo inicial foi transferido para 10 mL de caldo MRS e incubado a 37°C por 24 horas (pré-inóculo). Para obtenção da biomassa, 1% (v/v) do pré-inóculo foi transferido para 300 mL de caldo MRS utilizando as mesmas condições. A biomassa foi separada por centrifugação em centrífuga refrigerada (Himac® CR21GII) a 14000 g (10000 rpm) por 10 min à 4°C e lavada três vezes com solução salina 0,85% (p/v) estéril (GUERGOLETTTO *et al.* 2010).

A biomassa lavada foi ressuspensa em 300 mL de solução salina estéril 0,85% (p/v) e misturada à 200 mL de suco de yacon crioconcentrado, formando material base para a secagem em *spray dryer*.

4.7 SPRAY DRYER

A secagem foi realizada em *spray dryer* construído em aço inox escala piloto (IWK Industrie Werke Karlsruhe - Karlsruhe, Alemanha) equipado com atomizador tipo dois fluidos, cuja alimentação foi realizada utilizando uma bomba peristáltica modelo DMC – 100 (MS TECNOPON - Instrumentação). O sólido seco foi obtido por meio de um ciclone, operando em modo de corrente paralela.

4.7.1 Encapsulação do suco de yacon crioconcentrado e *Lactobacillus casei*

Para encapsular o suco de yacon crioconcentrado e *Lactobacillus casei*, foi realizado um delineamento com 3 repetições em triplicata variando a proporção do agente encapsulante e fixando a temperatura do ar de entrada no equipamento em 100°C. Devido a experimentos preliminares foi identificado que houve sobrevivência de número ideal de microrganismos somente no tratamento com no máximo 100°C de temperatura. Os agentes encapsulantes também foram estabelecidas em testes preliminares.

As condições de secagem em *spray dryer* para todo o experimento foram: 7°C de temperatura de alimentação do suco, vazão de 10 mL/min realizada através de uma bomba peristáltica, temperatura de entrada do ar $100 \pm 2^{\circ}\text{C}$, temperatura de saída $40 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Para a formação da mistura, 200 mL de suco de yacon crioconcentrado, biomassa e 72 g agente encapsulante (maltodextrina + soro de leite) foram dissolvidos em água destilada até a concentração de sólidos de 18%. As proporções maltodextrina e soro de leite empregadas foram: amostra A 60:40 (44 g de maltodextrina e 28 g de soro de leite), amostra B 70:30 (51 g de maltodextrina e 21 g de soro de leite) e amostra C 80:20 (58 g de maltodextrina e 14 g de soro de leite).

O suco de yacon crioconcentrado e adicionado do *Lactobacillus casei* foi seco e obtido na forma de pós, coletado em um ciclone localizado na saída do *spray dryer*, identificado como produto simbiótico em pó e armazenado em frascos fechados, dentro de dessecadores à temperatura ambiente para análises.

Na FIGURA 7 está ilustrado o fluxograma das etapas do processamento para obtenção do produto simbiótico em pó.

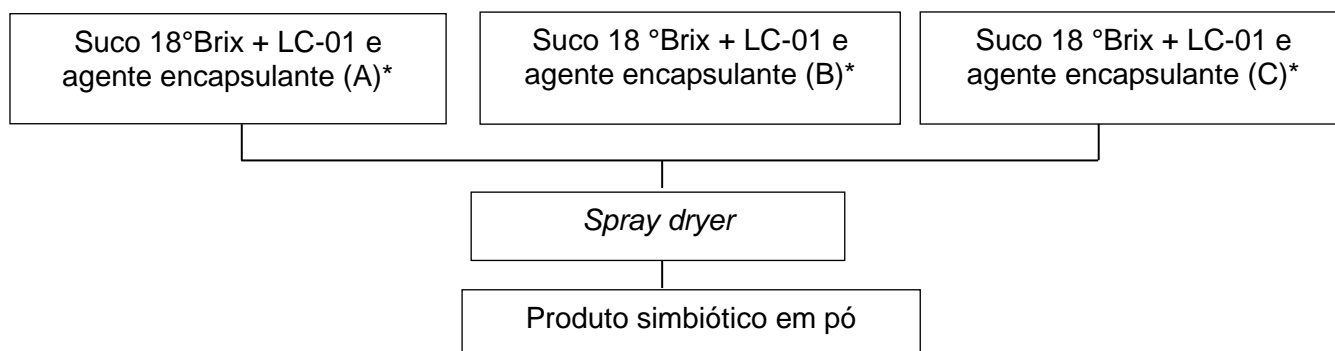


FIGURA 7 - PROCESSAMENTO PARA OBTENÇÃO DO PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ.

*Concentrações empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40, (B), 70:30 e (C) 80:20 (m/m).

FONTE: O autor (2016).

4.8 ANÁLISES DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ

4.8.1 Caracterização físico-química

Para a caracterização físico-química foram realizadas análises de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos, conforme TABELA 1.

4.8.2 Análise de solubilidade

Para todas as amostras a solubilidade foi determinada conforme o método de Eastman e Moore (1984) com algumas modificações. Em 100 mL de água destilada, foi adicionado 1 g de pó, o qual foi homogeneizado utilizando um agitador magnético à alta velocidade, por 5 minutos. Em seguida, essa solução foi centrifugada a 9500 rpm durante 10 minutos. Uma alíquota de 20 mL do sobrenadante foi submetida à secagem em estufa a vácuo (TE-395 TECNAL), à temperatura de 75°C por 5 horas. A solubilidade (%) foi calculada por diferença de peso utilizando a Equação 3.

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Massa de pó no sobrenadante}}{\text{Massa de pó total}} \cdot 100 \quad (3)$$

4.8.3 Análise de higroscopicidade

Amostras do produto simbiótico em pó foram pesadas em cápsulas de alumínio (2 g) e mantidas em um dessecador contendo solução saturada de NaCl à temperatura ambiente (URE igual a 75%) até que o equilíbrio fosse atingido. Realizou-se a pesagem em intervalos de 48 horas até peso constante, atingido com aproximadamente 25 dias. A higroscopicidade foi expressa como o conteúdo de água absorvida em 100 gramas do pó em base seca (g/100g b.s) (TONON; BRABET & HUBINGER, 2008).

4.8.4 Atividade de água

Os valores experimentais de atividade de água foram obtidos através de leitura direta em medidor eletrônico (AquaLab Series 3TE, Decagon Devices, Inc., Pullman, USA) método nº 978.18 AOAC (1990).

4.9 ANÁLISE DOS CARBOIDRATOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Foram realizadas as análises dos carboidratos no suco de yacon crioconcentrado, no produto simbiótico em pó e após 30 dias de armazenamento por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foi usado um cromatógrafo marca *Waters* 2695, com bomba quaternária e detector de índice de refração *Waters* 2414, controlados pelo software *Empower – Waters*. A coluna utilizada foi a Rezex RSO – OLIGOSSACARIDEO Ag⁺ (200 X 10 mm) sendo a fase móvel água ultra pura (Milli-Q) filtrada e degaseificada.

Os padrões de grau cromatográfico utilizados foram glucose, frutose, inulina e frutooligossacarídeos. Antes de serem injetados, os padrões e as amostras foram filtradas em membrana CHROMAFIL (Xtra PA-45/25) poro 0,45 μ e diâmetro 25 mm. O fluxo da fase móvel foi de 0,2 mL.min⁻¹, a temperatura do detector de 30°C, a temperatura da coluna de 75°C e a sensibilidade de 32.

4.9.1 Validação do método analítico por CLAE

Foram utilizados padrões de frutooligossacarídeos Sigma, lote 022K1522 (50 g) e inulina Sigma, lote 099F7125 (25 g). As soluções estoque foram preparadas na concentração de 100 μ g mL⁻¹, utilizando balões volumétricos certificados e água ultra pura (Milli-Q).

Os parâmetros de validação para o método cromatográfico foram realizados de acordo com a ANVISA - Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 e INMETRO - DOQ-CGCRE-008, julho 2011, e sendo avaliados os critérios de precisão intermediária, exatidão, robustez, seletividade, linearidade, limite de detecção e limite de quantificação. Todos os estudos foram realizados em triplicatas (BELTRAME *et al.*, 2012)

As curvas padrão de FOS e inulina foram construídas com 5 níveis de concentração em diluição seriada, plotadas relacionando a área do pico em função da concentração do composto.

Alíquotas da solução padrão de FOS e inulina foram adicionadas no suco de yacon crioconcentrado diluído (1:10). As amostras foram preparadas em 5

níveis de concentração e a curva de calibração foi feita representando graficamente a área do pico em função da concentração do composto adicionado.

A linearidade do método foi determinada a partir da equação da regressão linear, determinada pelos métodos dos mínimos quadrados, o coeficiente de correlação linear (r) e o coeficiente de determinação (R^2).

Determinou-se a precisão do método através do cálculo do Desvio Padrão Relativo percentual das amostras, submetidas a ensaios de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade e a precisão intermediária do método foram avaliadas com três concentrações diferentes, preparadas por diferentes analistas e analisadas em dois dias não consecutivos, sendo expressas pelo coeficiente de variação, tendo como critério de aceitação 5%.

A exatidão do método foi determinada a partir de três concentrações e verificada pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente.

Para a determinação da seletividade utilizou-se a comparação da curva de padrão externo e a curva de adição de padrão, verificando a pureza dos padrões FOS e inulina na corrida analítica da amostra com adição de padrão. O Fator de retenção do FOS e da inulina também foram parâmetros de identificação.

A estimativa do limite de detecção foi calculado com base na relação de 3 vezes o ruído da linha de base e a estimativa do limite de quantificação foi calculado com base na relação de 10 vezes o ruído da linha de base.

Para a determinação da robustez, três concentrações das amostras padrão foram preparadas e analisadas sob as condições estabelecidas e alterando a temperatura da coluna de 70°C a 85°C.

4.10 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR

A viabilidade de *Lactobacillus casei* no produto simbiótico em pó foi determinada conforme Vanderzant e Splittstoesser (1992) e Santivarangkna, Kulozik e Foerst (2006). Em 10 g da amostra foram adicionados 90 mL de água peptonada 0,1% (p/v) (Himedia[®], Mumbai, Índia), seguido de agitação e de diluições decimais seriadas, sendo utilizadas para semeadura por profundidade em placas com ágar *De Man Rogosa Sharp* (MRS) (Acumedia[®], Lansing Michigan 48912) em triplicata. Foi criado um ambiente de anaerobiose com uma camada

extra do meio de cultura. As placas foram empilhadas de forma invertida, armazenadas em jaras de anaerobiose e incubadas à 37°C por 72 h. Ao final do período de incubação, as colônias foram contadas e o total foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada. O resultado foi expresso em Log UFC.g⁻¹.

4.11 AVALIAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA

Os produtos simbióticos em pó foram armazenados durante 30 dias em frascos de vidros hermeticamente fechados à temperatura ambiente. Foram feitas análises de carboidratos (item 4.9), viabilidade celular (item 4.10), sobrevivência do *Lactobacillus casei* às condições de HCl e sais biliares (item 4.12) e condições gástricas simuladas (item 4.12.1).

4.12 SOBREVIVÊNCIA DO *LACTOBACILLUS CASEI* ÀS CONDIÇÕES DE HCL E SAIS BILIARES

A tolerância ácida foi verificada pela adição de 1 g de produto simbiótico em pó, em 9 mL de solução estéril de 0,08 M HCl (Biotec[®]) contendo 0,2% NaCl, pH 1,5. O material foi incubado à 37°C por 30, 60, 90 ou 120 min. No teste de resistência aos sais biliares, 1 g da amostra foi adicionado a 9 mL da solução de 0,05 M KH₂PO₄ (Neon[®]) contendo 0,6% de sais biliares (Sigma-Aldrich[®]), em pH 7,4, e incubado a 37°C por 150 min. Após esse período, a viabilidade celular foi determinada em ágar MRS e incubado a 37°C por 72 h (GUERGOLETTTO *et al.* 2010).

A porcentagem de células sobreviventes às condições de HCl e sais biliares foi calculada de acordo com a Equação 4, em 30 dias de armazenamento.

$$\% \text{ células sobreviventes} = \frac{\log \text{UFC.g}^{-1} \text{ final}}{\log \text{UFC.g}^{-1} \text{ inicial}} \cdot 100 \quad (4)$$

Onde:

Log UFC.g⁻¹ final é a quantidade de células encontradas no produto simbiótico em pó no final das condições de HCl e sais biliares; Log UFC.g⁻¹ inicial é a quantidade

de células encontradas produto simbiótico em pó no início das condições de HCl e sais biliares.

4.12.1 Sobrevivência de *Lactobacillus casei* às condições gástricas simuladas

A quantidade inicial de células foi multiplicada pela porcentagem de sobrevivência em 0,08 M HCl e o resultado obtido foi multiplicado pela porcentagem de sobrevivência em sais biliares (LEONE, 2014).

4.13 EFICIÊNCIA DA ENCAPSULAÇÃO

Para a determinação da eficiência da encapsulação, as amostras A, B, C (FIGURA 7) separadamente, foram desintegradas em tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0) seguido por homogeneização, utilizando um agitador magnético durante 30 min, de acordo com a metodologia proposta por Sheu, Marshall e Heyman (1993). Após esse período, a viabilidade celular foi determinada em duplicata em ágar MRS modificado com 0,2 g de cloreto de lítio e 0,3 g de propionato de sódio e incubadas em jarras de anaerobiose a 37°C por 72 h. Os resultados foram expressos como UFC por g de microcápsulas secas por mL de solução. A eficiência da encapsulação (EE) foi dada pela Equação 5:

$$EE = \frac{N}{N_0} \cdot 100 \quad (5)$$

Onde:

N é o número de células viáveis após a desintegração e N_0 é o número de células viáveis antes da desintegração.

4.14 ANÁLISE TÉRMICA

As análises térmicas foram realizadas no laboratório de GETAFPQ – Grupo de Estudos Termoanalíticos de Alimentos, Fármacos e Produtos Químicos do CTA

– Centro de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

4.14.1 Termogravimetria e Termogravimetria Derivada (TG - DTG)

As curvas TG -DTG foram obtidas utilizando um sistema de análise térmica TGA - 50 (Shimadzu, Japão), em que as amostras foram aquecidas a uma razão de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, de 35°C a 600°C utilizando cadinho de alfa alumina aberto com cerca de 7 mg da amostra, sob um fluxo de ar sintético com vazão de 50 mL.min^{-1} . O equipamento foi preliminarmente calibrado com padrão de oxalato monohidratado de cálcio. Todas as perdas de massa, temperaturas e temperaturas de pico foram determinadas utilizando software TA - 60 WS (ALBERTON *et al.*, 2014; ANDRADE *et al.*, 2014).

4.14.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas utilizando o equipamento modelo DSC - Q200 (TA-Instruments, EUA). As curvas foram realizadas e registradas no software do instrumento sob um fluxo de ar de 50 mL.min^{-1} , taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C.min}^{-1}$. O instrumento foi previamente calibrado com o padrão Índio 99,99% de pureza, ponto de fusão com $T_p = 156,6^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = 28,56 \text{ g.J}^{-1}$. Esta técnica foi realizada em duas condições. A primeira: cada substância sólida ou semi-sólida (7,0 mg) foi transferida para um cadinho de alumínio aberto e cada amostra foi aquecida de $30\text{-}250^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera dinâmica de ar a 100 mL.min^{-1} . Na segunda condição: em cada amostra (massa em torno de 2,0 mg), adicionou-se 8,0 μL de água destilada em cadinho de alumínio com tampa perfurada e cada curva DSC foi realizada em ciclos de resfriamento ($+25$ até -50°C) seguindo por aquecimento (-50 até $+250^{\circ}\text{C}$) (ANDRADE *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

4.15 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE FEIXE DE CAMPO DE ELÉTRONS (FEG)

O método de microscopia eletrônica de feixe de campo de elétrons foi realizado em um microscópio de marca *Tescan* e modelo Mira 3. As amostras

foram recobertas com aproximadamente 8 nm de Au/Pd pelo método *sputting* usando o equipamento *Sputter Coater*, modelo SC7620 (QUORUM), que permitiu obter microimagens da superfície dos grânulos do produto simbiótico em pó em alta resolução (HORNUNG *et al.*, 2015).

4.16 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO

A metodologia para obtenção dos dados experimentais foi baseada nos procedimentos descritos pelo Projeto COST 90 (WOLF *et al.*, 1984). Na TABELA 2 podem ser visualizados as soluções salinas saturadas usadas para criar atmosferas com umidade relativa controlada, de acordo com Greenspan (1997) e Kitic *et al.* (1986).

TABELA 2 - ATIVIDADE DE ÁGUA DAS SOLUÇÕES SALINAS A 25°C.

SAL	ATIVIDADE DE ÁGUA
Cloreto de Lítio	0,11
Cloreto de Magnésio	0,32
Cloreto de Sódio	0,75
Cloreto de Potássio	0,84
Carbonato de Potássio	0,43
Nitrito de Sódio	0,64
Brometo de Potássio	0,57

FONTE: KITIC *et al.* (1986); GREENSPAN (1997).

As isotermas de sorção foram determinadas pesando 0,5 g de cada amostra em cadinhos de alumínio previamente tarados. Os cadinhos foram acondicionados em potes hermeticamente fechados (180 mm x 180 mm x 100 mm) contendo as soluções saturadas, acondicionados em uma estufa incubadora à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. As massas das amostras foram monitoradas a cada 24 horas até atingirem massa constante. Com a finalidade de verificar a confiabilidade dos resultados, o ensaio foi repetido nas mesmas condições.

O comportamento das amostras foi predito através da utilização dos modelos teóricos GAB, Langmuir, BET, BET Linearizado (TABELA 3), que são propostos por diversos autores por geralmente apresentar bom ajuste dos dados experimentais.

TABELA 3 - MODELOS MATEMÁTICOS UTILIZADOS PARA AJUSTAR OS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO DE EQUILÍBRIO.

MODELO TEÓRICO	EQUAÇÃO
GAB (Guggenheim, Anderson, DeBoer)	$U_{eq} = X_m \cdot C \cdot K \cdot a_w / (1 - K \cdot a_w) \cdot (1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)$
Langmuir	$U_{eq}/X_m = C \cdot a_w / (1 + C \cdot a_w)$
BET (Brunauer, Emmet, Teller)	$U_{eq} = (X_m \cdot C \cdot a_w) \cdot (1 - (n+1) \cdot a_w^n + n \cdot a_w^{n+1}) / (1 - a_w) \cdot (1 + (C-1) \cdot a_w - C \cdot a_w^{n+1})$
BET Linearizado (Brunauer, Emmet, Teller)	$a_w / (1 - a_w) \cdot U_{eq} = (1 / X_m \cdot C) + (a_w \cdot (C-1)) / X_m \cdot C$

Onde:

U_{eq} = conteúdo de umidade de equilíbrio (g de água.g de matéria seca⁻¹).

X_m = conteúdo de umidade na monocamada (g de água.g de matéria seca⁻¹).

a_w = atividade de água.

C, n, K= constantes das equações.

FONTE: O autor (2016).

Para verificar a qualidade do ajuste de cada modelo teórico, foi realizada análise de regressão não-linear, através do método de Gauss-Newton, utilizando o software STATISTICA 10.0. A seleção dos modelos ocorreu de acordo com o coeficiente de determinação (R^2), do erro percentual (P) e do erro padrão (SE), calculados conforme as Equações 6 e 7.

$$P(\%) = \frac{100}{N} \sum \frac{(|Y - \hat{Y}|)}{Y} \quad (6)$$

$$SE = \sum \frac{[(Y - \hat{Y})]^{-0,5}}{N-p} \quad (7)$$

Onde:

\hat{Y} e Y são os valores de umidade de equilíbrio calculados pelo modelo e experimental respectivamente, N é o número de dados experimentais e p é o número de constantes no modelo.

O modelo é considerado aceitável se o valor de P for menor que 10%, se apresentar o valor de R^2 maior do que 0,9 e valores de SE menores do que 0,3 (LEWICKI, 2008).

4.17 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi feita através de delineamento não linear e realizada através do software Statistica 10.0 utilizando Experimental design.

Essa avaliação teve como objetivo fornecer os valores das médias, desvios padrão, ocorrência de diferenças significativas e as comparações múltiplas entre as médias através da Análise de Variância (ANOVA), ao nível de confiança de 95% ($P < 0,05$). O Teste de Tukey foi aplicado para observar diferença significativa.

Os experimentos foram realizados em triplicatas e os resultados foram expressos pelas médias dos resultados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EFICIÊNCIA DA CRIOCONCENTRAÇÃO

Pode ser observado no presente trabalho que três etapas consecutivas de crioconcentração elevaram o teor de sólidos solúveis totais do suco de yacon de 5°Brix para 18°Brix, o que representa 3,60 vezes o valor de teor de sólidos solúveis iniciais. A eficiência da crioconcentração no suco de yacon foi de $71,39 \pm 0,81$. Watanabe (2013) crioconcentrou suco de yacon e avaliou um aumento de 7°Brix para 18°Brix no teor de sólidos totais em 3 ciclos de crioconcentração.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ

Os produtos simbióticos em pó com diferentes concentrações de agentes encapsulantes estão apresentados na FIGURA 8.

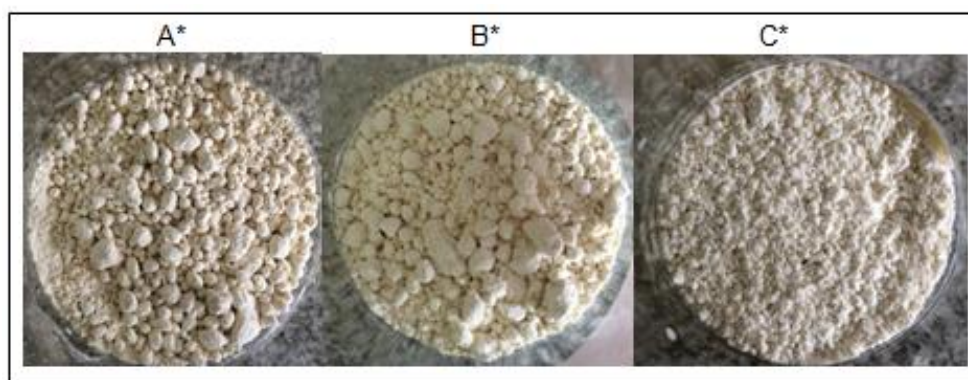


FIGURA 8 - PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AGENTES ENCAPSULANTES.

. *Concentrações empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40, (B), 70:30 e (C) 80:20 (m/m).

FONTE: O autor (2016).

Os resultados da caracterização físico-químicas dos produtos simbióticos em pó encontram-se na TABELA 4.

TABELA 4 - MÉDIAS DOS VALORES EM % DOS PARÂMETROS FÍSICO - QUÍMICOS DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ PARA AS DIFERENTES AMOSTRAS.

ANÁLISES	AMOSTRAS		
	A**	B**	C**
Umidade*	7,30 ± 0,62 ^a	7,70 ± 0,24 ^b	6,93 ± 0,15 ^{ab}
Cinzas	3,60 ± 0,77 ^a	2,88 ± 0,36 ^a	2,65 ± 0,60 ^{ab}
Proteínas	10,34 ± 0,28 ^a	10,29 ± 0,46 ^a	9,10 ± 0,39 ^a
Lipídios	Não detectado	Não detectado	Não detectado
Acidez Titulável	0,14 ± 0,0001 ^a	0,13 ± 0,0002 ^{ab}	0,08 ± 0,0005 ^b
Solubilidade	81,28 ± 0,11 ^a	80,97 ± 0,34 ^a	80,55 ± 0,29 ^a
Higroscopicidade (g/100g)	15,54 ± 0,41 ^a	13,85 ± 0,70 ^{ab}	11,62 ± 0,54 ^b

*Base úmida.

**Concentrações empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40; (B) 70:30 e (C) 80:20 (m/m).

^{a,b,c}médias seguidas da mesma letra, na mesma linha, são estatisticamente iguais à 95% de significância.

FONTE: O autor (2016).

Quanto à composição foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os produtos simbióticos em pó mostrando que a proporção empregada de maltodextrina e soro de leite influenciaram significativamente na umidade, acidez titulável e higroscopicidade do produto final.

O alto teor de cinzas e proteínas nos produtos simbióticos em pó é justificado pelo uso do agente encapsulante soro de leite, cuja composição centesimal mostrou percentual de 4,25 de cinzas e 11,87 de proteínas.

O teor de umidade está relacionado com a estabilidade do pó. Alimentos com baixo teor de umidade tem uma maior estabilidade pela redução de água, inibindo as reações microbiológicas e retardando as enzimáticas. O menor conteúdo de umidade ($6,93\% \pm 0,15$) foi atribuído a relação com menor proporção de soro de leite.

Não houve diferença significativa para solubilidade ($P > 0,05$), e a proporção de maltodextrina não proporcionou aumento da solubilidade. As concentrações de maltodextrina apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) em relação com os valores de adsorção de água pelo produto simbiótico, demonstrando que a higroscopicidade das partículas diminuem com o acréscimo do agente encapsulante. Sendo assim, a utilização de maiores concentrações de maltodextrina resulta em um produto simbiótico em pó com maior estabilidade, confirmando sua eficiência como agente encapsulante.

5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE

A validação do método analítico para a quantificação de FOS e inulina no suco de yacon crioconcentrado apresentaram resultados dentro dos parâmetros estabelecidos pela ANVISA e o INMETRO. Os resultados são apresentados na TABELA 5.

TABELA 5 - RESULTADO DA VALIDAÇÃO DE MÉTODO POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA QUANTIFICAÇÃO DE FOS E INULINA NO SUCO DE YACON CRIOCONCENTRADO.

PARÂMETRO DA VALIDAÇÃO		FOS	INULINA	
Linearidade		$R^2 = 0,9983$	$R^2 = 0,9971$	
Repetitividade		CV% = 0,55 ¹	CV% = 1,26 ¹	
		CV% = 0,19 ²	CV% = 2,78 ²	
		CV% = 0,14 ³	CV% = 2,59 ³	
Precisão intermediária	Dia 1	Dia 2	Dia 1	Dia 2
	CV% = 0,25 ¹	CV% = 0,93 ¹	CV% = 2,76 ¹	CV% = 2,97 ¹
	CV% = 0,65 ²	CV% = 0,66 ²	CV% = 1,27 ²	CV% = 3,91 ²
	CV% = 0,05 ³	CV% = 0,05 ³	CV% = 0,67 ³	CV% = 4,58 ³
Exatidão	96,70 ¹ ± 0,05%		73,30 ¹ ± 0,03%	
	86,70 ² ± 0,07%		93,30 ² ± 0,05%	
	100 ³ ± 0,01%		83 ³ ± 0,07%	
LD		0,025 g/100mL	0,025 g/100mL	
LQ		0,10 g/100mL	0,10 g/100mL	

¹Concentração 0,15g/100mL. ²Concentração 0,6g/100mL. ³Concentração 1,0g/100mL. CV%= coeficiente de variação, R²=coeficiente de determinação, LD= limite de detecção, LQ= limite de quantificação.

FONTE: O autor (2016).

A regressão linear dos dados experimentais apresentou $R^2 > 0,99$ tanto do composto FOS, quanto da inulina, o que demonstra linearidade, atendendo desta forma os critérios da ANVISA e INMETRO.

A precisão do método foi determinada por meio da repetibilidade e pela precisão intermediária, os resultados foram expressos com base no coeficiente de variação (CV%), cujo limite de aceitação estabelecido pela ANVISA e INMETRO é de, no máximo, 5,0%. Três concentrações de cada padrão foram submetidas a análises e apresentaram um CV% satisfatórios, conforme dados mostrados na TABELA 6. Pode-se concluir que o método é preciso intracorrida (3 concentrações) e intercorrida (2 dias diferentes). A exatidão do método também foi determinada por

meio da análise de três concentrações e os resultados experimentais, que correspondem à porcentagem média de 94,47% para FOS e 83,2% para inulina, são mostrados na TABELA 5.

A sensibilidade do método cromatográfico foi determinada através dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). O limite de detecção corresponde à menor concentração da substância em análise que pode ser detectada com certo limite de confiabilidade, porém não necessariamente quantificada com valor exato, utilizando o procedimento experimental. O limite de quantificação representa a menor concentração de um analito que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis. O valor calculado para a menor concentração detectada e quantificada pelo processo analítico foi 0,025 g/100mL para FOS e 0,1 g/100mL para inulina. Esses valores foram menores que o valor de quantificação do método, o que demonstra que este método é adequado aos objetivos propostos.

Como a robustez é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, foi utilizado a temperatura da coluna variando de 70°C a 85°C. As modificações não alteraram os resultados, mantendo-os dentro dos critérios de aceitação, indicando que o método é robusto para as temperaturas avaliadas.

A seletividade e especificidade do método cromatográfico foram avaliadas injetando-se nas mesmas condições o padrão externo (FOS e inulina) e a matriz com adição do padrão. O fator de retenção foi verificado, mostrando a pureza do método pelo gráfico tipo *ratigram*, que expressa o sinal do analito e de uma provável impureza em função do tempo. No tempo de retenção do FOS e inulina essa razão foi igual à zero, não existindo outra substância que interfira com estes padrões nas condições estabelecidas no teste.

5.3.1 Caracterização dos carboidratos por cromatografia líquida de alta eficiência

Para separar e quantificar os carboidratos presentes no suco de yacon crioconcentrado foi desenvolvida e otimizada uma metodologia por CLAE. A Figura 9 representa o perfil cromatográfico de açúcares encontrados no suco de yacon crioconcentrado.

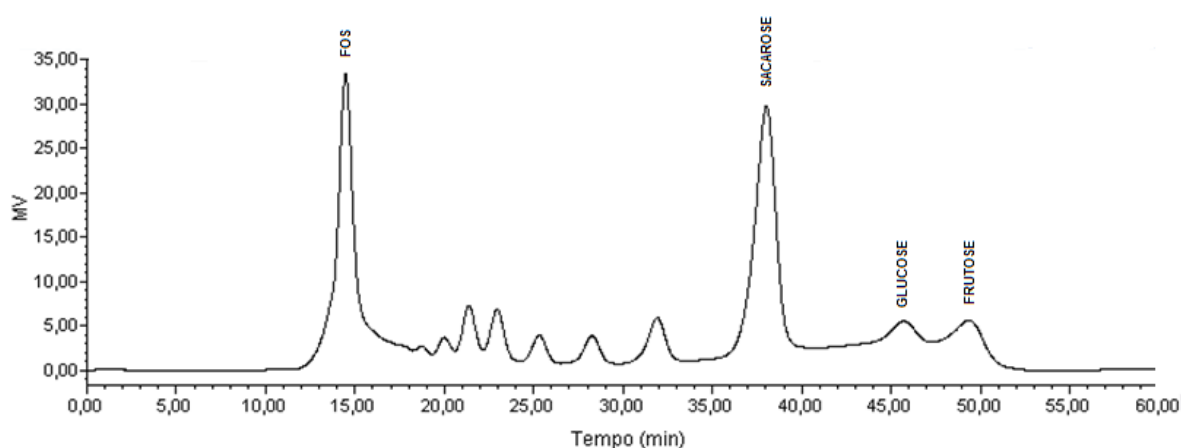


FIGURA 9 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS AÇÚCARES DO SUCO DE YACON CONCENTRADO.
FONTE: O autor (2016)

Os monossacarídeos glucose e frutose eluíram em 48,323 minutos e 52,783 minutos, o que representa 17,4 g e 28,3 g em base seca no suco de yacon, respectivamente. Os FOS tiveram um tempo de retenção de 15,740 minutos representando 27,81 - 30,12 g dos sólidos do suco de yacon.

A separação dos frutooligossacarídeos nos produtos simbióticos em pó por CLAE (anexo IV) revelou redução de 39,3% de FOS após processo por *spray dryer*. Não há na literatura científica trabalhos que reportem produto simbiótico em pó encapsulado a partir de suco de yacon crioconcentrado utilizando como material de parede maltodextrina e soro de leite, na tecnologia de *spray dryer*. Lago *et al.* (2012) e Brites (2013) também encontraram uma diminuição significativa do teor de inulina e FOS no yacon após processos de secagem por atomização. Esses resultados podem indicar a possível hidrólise da inulina e dos FOS em açúcares simples devido a alta temperatura.

5.4 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR

Foi determinada a sobrevivência ideal do número de *Lactobacillus casei*, que fica numericamente entre 10^8 a 10^9 UFC.g⁻¹ de acordo com a ANVISA (2008) para os produtos simbióticos encapsulados obtidos, tendo sido considerada viável a condição da secagem onde a temperatura do ar de entrada do *spray dryer* foi de $100 \pm 2^\circ\text{C}$.

O número de microrganismos viáveis no suco de yacon crioconcentrado foi determinado antes e após a secagem, para verificação do efeito da secagem sobre a população de microrganismos (Tabela 6).

TABELA 6 - CONTAGEM DOS LC-01 ANTES E APÓS O PROCESSO DE SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO

AMOSTRAS*	CONTAGEM INICIAL (Log UFC.mL ⁻¹)	CONTAGEM APÓS SPRAY DRYER (Log UFC.g ⁻¹)	CONTAGEM 30 dias (Log UFC.g ⁻¹)
A	12,67±0,15 ^a	10,65±0,01 ^b	8,43±0,11 ^c
B	12,67±0,15 ^a	10,45±0,09 ^b	9,14±0,40 ^b
C	12,67±0,15 ^a	11,57±0,12 ^a	10,56±0,43 ^a

*Proporções empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40; (B) 70:30 e (C) 80:20 (m/m).

^{a,b} médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, são estatisticamente iguais à 95% de significância.

n=3.

FONTE: O autor (2016).

O uso da maltodextrina como agente encapsulante na proporção de 80% teve influência significativa no número de células viáveis de *Lactobacillus casei*, resultando em maior viabilidade após o processo de secagem. Os resultados encontrados no presente estudo corroboram com aqueles verificados por Santos (2013).

Outros autores encapsularam microrganismos utilizando *spray dryer* e verificaram que após o processo de atomização houve uma perda significativa de viabilidade (GOLOWCZYC *et al.*, 2011; YING *et al.*, 2012; DUONGTHINGOC *et al.*, 2013; RANADHEERA *et al.*, 2015).

Kingwatee e colaboradores (2014) investigaram uma temperatura de secagem de saída ótima (60, 70, 80 e 90°C) e um agente encapsulante adequado (maltodextrina, inulina e goma arábica) para encapsular *Lactobacillus casei* em suco de lichia. Foi definido 80°C como sendo a temperatura ótima de secagem, uma vez que houve produção de um pó com alta sobrevivência do probiótico e alta solubilidade, mas relativamente baixa umidade e atividade de água. Além disso, 15% (m/v) de maltodextrina, acrescido de 5% (m/v) de inulina foi considerado adequado para a encapsulação.

Na presente pesquisa as condições de atomização foram adequadas para garantir a viabilidade do microrganismo *Lactobacillus casei* nas amostras de suco de yacon encapsulado.

5.5 AVALIAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA

A viabilidade de *Lactobacillus casei* nos pós simbióticos encapsulados armazenados por 30 dias à temperatura ambiente apresentou redução de menos de $1,5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ para as amostras 80:20 e 70:30, além de menos de $2,0 \text{ Log}_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ para a amostra 60:40.

Considerando que para ter efeito probiótico estes microrganismos devem ser ingeridos diariamente na quantidade de pelo menos 10^8 UFC.mL^{-1} (ANVISA, 2008), os produtos simbióticos em pó supririam esta condição.

Os produtos simbióticos em pó apresentaram, ao final de 30 dias de armazenamento, o mesmo teor de frutooligossacarídeos após a secagem por atomização (18,28 g/100g). A quantidade de FOS encontrada é maior que o mínimo exigido pela legislação (ANVISA, 2008), podendo desta forma ser classificado como prebiótico.

Os FOS não são degradados durante a maioria dos processos de aquecimento, mas podem ser hidrolisados em frutose em condições muito ácidas ou em condições de exposição prolongada de determinados binômios tempo/temperatura (PASSOS & PARK, 2003). Leone (2014), também cita que a temperatura de secagem de 70°C não é suficientemente alta para causar reações de degradação dos prebióticos naturalmente presentes no yacon (FOS e inulina), visto que estas reações se iniciam em temperaturas acima de 224°C com a desidratação da amostra.

5.6 SOBREVIVÊNCIA DO *Lactobacillus casei* ÀS CONDIÇÕES DE HCI E SAIS BILIARES

No estômago e no intestino delgado, o ambiente é desfavorável para a colonização e proliferação bacteriana devido à ação bactericida do suco gástrico, da bile e da secreção pancreática, além do intenso peristaltismo apresentados por esses órgãos. Com isso, a resistência ao suco gástrico, à bile e às enzimas do trato gastrointestinal são fundamentais para garantir a atividade biológica dos microrganismos probióticos (TANNOCK, 1999; ALAMPRESE *et al.*, 2002; MATTILA-SADHOLM *et al.*, 2002).

A TABELA 7 mostra os valores referentes à sobrevivência dos LC - 01 às condições de HCl e sais biliares após 30 dias de armazenamento. Após o período de duas horas em contato com a solução de HCl (simulação das condições do estômago humano) houve redução significativa da quantidade de LC-01 para todas as proporções avaliadas. A maior perda de viabilidade foi para a amostra C, seguida da amostra B e depois da amostra A, cujas reduções foram de 1,646 Log UFC.g⁻¹, 1,246 Log UFC.g⁻¹ e 1,051 Log UFC.g⁻¹, respectivamente. Observou-se para todas as amostras que mais de 78% das células mostraram-se resistentes às condições adversas simuladas.

TABELA 7 - SOBREVIVÊNCIA DOS LC-01 ÀS CONDIÇÕES DE HCL E SAIS BILIARES.

AMOSTRAS*	CONTAGEM INICIAL **	CONTAGEM 30 dias**	CONDIÇÕES SIMULADAS			
			HCL	% ***	SAIS BILIARES	% ***
			Log UFC.g ⁻¹		Log UFC.g ⁻¹	
A	10,65±0,01 ^{a,A}	8,43±0,11 ^{c,B}	7,38±0,36 ^{a,C}	87,53	7,03±0,36 ^{b,D,C}	83,4
B	10,45±0,09 ^{a,A}	9,14±0,40 ^{b,B}	7,90±0,62 ^{a,C}	86,38	7,93±0,62 ^{a,b,D,B,C}	86,76
C	11,57±0,12 ^{b,A}	10,56±0,43 ^{a,B}	8,92±0,64 ^{a,C}	84,42	8,74±0,38 ^{a,D,C}	82,74

*Proporções empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40, (B) 70:30 e (C) 80:20 (m/m).

** Log UFC.g⁻¹.

*** % de sobrevivência.

^{a,b,c} médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, são estatisticamente iguais à 95% de significância.

^{A,B,C,D} médias seguidas da mesma letra, na mesma linha, são estatisticamente iguais à 95% de significância

FONTE: O autor (2016).

Quanto à porcentagem de sobrevivência das células em solução de sais biliares, os resultados mostraram que mais de 80% das células foram resistentes às condições intestinais. Pelos resultados obtidos pode-se afirmar que a quantidade de células de LC-01 no produto simbiótico em pó armazenado por 30 dias diminuiu após o contato com as condições simuladas, e que apenas a proporção 80:20 manteve o número ideal de microrganismos, segundo legislação vigente (ANVISA, 2008), proporcionando efeito probiótico.

Devido a impossibilidade técnica de simular as condições gástricas e intestinais em uma mesma amostra simultaneamente, como ocorre em situação real de ingestão, duas soluções foram utilizadas separadamente, simulando primeiro a passagem pelo estômago (HCl) e, posteriormente, pelo intestino (sais biliares). A quantidade inicial de células foi multiplicada pela porcentagem de sobrevivência em HCl e o resultado obtido foi multiplicado pela taxa de sobrevivência em sais biliares (TABELA 8).

TABELA 8 - SOBREVIVÊNCIA DOS LC-01 ÀS CONDIÇÕES GÁSTRICAS SIMULADAS.

AMOSTRAS*	CONTAGEM INICIAL**	% SOBREVIVÊNCIA HCL	HCL *	% SOBREVIVÊNCIA SAIS BILIARES	SAIS BILIARES *
A	10,65	87,53	9,323	83,40	7,77
B	10,45	86,38	9,026	86,76	7,83
C	11,57	84,42	9,769	82,74	8,08

*Proporções empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40, (B) 70:30 e (C) 80:20 (m/m).

* Log UFC.g⁻¹.

FONTE: O autor (2016).

Ao final, a população de LC-01 nos produtos simbióticos em pó eram de $5,95 \cdot 10^7$ UFC.g⁻¹, $6,77 \cdot 10^7$ UFC.g⁻¹ e $1,20 \cdot 10^8$ UFC.g⁻¹, para as amostras A, B e C, respectivamente, apresentando diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$). Segundo Champagne *et al.* (2011) e Shah (2011) um produto que contém microrganismos probióticos deve conter um número de células viáveis que apresentam efeito benéfico oscilando entre 10^6 - 10^8 UFC.g⁻¹. Portanto, a população obtida após a simulação das condições gástricas está de acordo com os resultados encontrados na literatura para produtos probióticos. Conforme preconiza a legislação brasileira, apenas a amostra C atende este parâmetro (ANVISA, 2008).

5.7 EFICIÊNCIA DA ENCAPSULAÇÃO

A viabilidade das células após desintegração das amostras foi expressa em termos de eficiência de encapsulação, conforme a Equação 4. Pode-se observar através dos dados (TABELA 9) que todas as amostras apresentaram diferença significativa entre si em relação à eficiência da encapsulação, para cada proporção de agente encapsulante estudado. Os valores da eficiência da encapsulação variaram entre 85,65% e 96%, sendo o menor valor referente à amostra A e o maior valor referente à amostra C. Assim, é possível evidenciar que o aumento da proporção de maltodextrina favorece positivamente a eficiência da encapsulação.

TABELA 9 - EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO APÓS DESINTEGRAÇÃO DAS AMOSTRAS

AMOSTRAS*	CONTAGEM INICIAL *	CONTAGEM APÓS DESINTEGRAÇÃO **	EFICIÊNCIA DA ENCAPSULAÇÃO (%)
A	10,65±0,01 ^{a,A}	9,12±0,08 ^{b,B}	85,65 ^a
B	10,45±0,09 ^{a,A}	9,32±0,05 ^{b,B}	89,2 ^b
C	11,57±0,12 ^{a,A}	11,11±0,04 ^{a,B}	96 ^c

*Proporções empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40; (B) 70:30 e (C) 80:20 (m/m).

** Log UFC.g⁻¹.

^{a,b,c} médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, são estatisticamente iguais à 95% de significância.

^{A,B,C} médias seguidas da mesma letra maiúscula, na mesma linha, são estatisticamente iguais à 95% de significância

FONTE: O autor (2016).

5.8 ANÁLISE TÉRMICA

As curvas TG/DTG foram realizadas com as substâncias sólidas, exceto o suco de yacon puro (FIGURA 9c), que foi crioconcentrado a 18ºBrix. As outras substâncias foram encapsuladas através da secagem por pulverização (FIGURA 9d - f) e os resultados calculados podem ser observados na TABELA 10.

TABELA 10 - PARÂMETROS TERMOGRAVIMÉTRICOS (TG/DTG) DE (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30 e (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.

AMOSTRAS	TG		RESULTADOS DTG	
	ETAPAS	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$
(a)	1°	2,57	30-74	44,43
	2°	5,80	74-138	123,11
	3°	42,60	138-239	179,80
	4°	46,78	239-519	430,61
(b)	1°	10,91	30-135	57,54
	2°	-----	142-189	-----
	3°	66,30	189-353	270,72
	4°	22,34	353-482	427,59
(c)	1°	84,66	30-138	81,41
	2°	6,75	138-232	176,49
	3°	7,63	232-497	402,30
(d)	1°	10,36	30-129	60,25
	2°	32,80	129-225	181,02
	3°	26,67	225-349	244,74
	4°	28,96	349-494	403,90
(e)	1°	7,93	30-115	59,64
	2°	29,80	115-217	179,08
	3°	29,90	217-322	247,53
	4°	13,67	322-385	357,75
	5°	16,85	385-465	410,28
(f)	1°	7,87	30-105	61,05
	2°	24,25	105-209	185,58
	3°	39,20	209-328	352,11
	4°	15,10	328-395	365,31
	5°	13,20	395-466	422,68

(*) Δm :% perda de massa, ΔT : temperatura média, T_p :temperatura de pico.

FONTE: O autor (2016).

Os dados referentes ao soro de leite (FIGURA 10a) mostram perda de massa em quatro etapas principais, sendo a primeiro (2,57%) devido ao processo de desidratação. Já a segunda etapa se deve à desnaturação da proteína com decomposição que ocorre simultaneamente, seguido por decomposição e oxidação da matéria orgânica. A maltodextrina (FIGURA 10b) também mostra a perda de massa em quatro etapas, de forma semelhante ao amido, a partir do qual esta substância é obtida. A primeira etapa de decomposição foi atribuída ao processo

de desidratação, seguida de estabilidade até temperatura de 189°C. Uma vez desidratado, ocorre a decomposição e oxidação da matéria orgânica em duas reações consecutivas.

Os dados referentes ao suco puro de yacon (FIGURA 10c) mostram perda de massa em três passos; o primeiro foi maior devido a redução no teor de água (84,66% - 83,40% TG e análise físico-química, respectivamente). A segunda e terceira perda de massa do suco puro de yacon são atribuídas a decomposição de FOS e inulina (principais componentes) do yacon. Estes resultados estão de acordo com a literatura. Leone *et al.* (2014 a, b) que observaram o mesmo comportamento para FOS e/ou inulina de chicória.

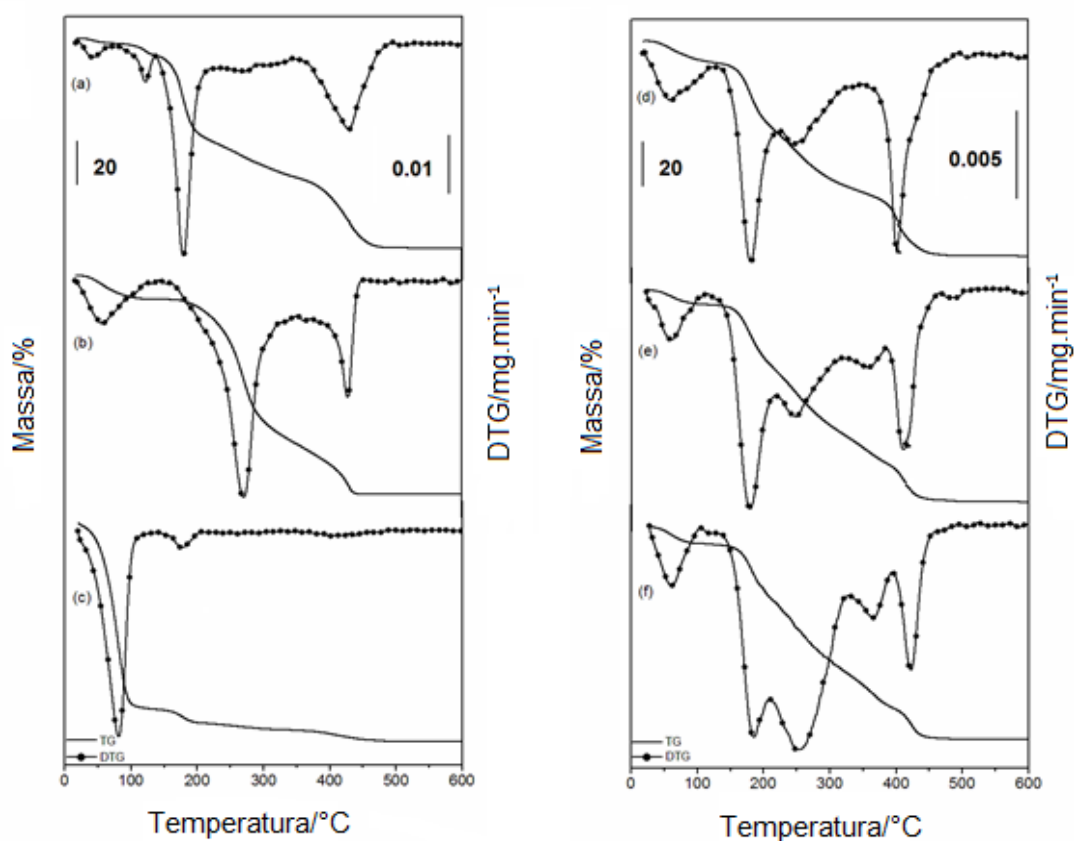


FIGURA 10 - CURVAS TG/DTG DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO 60:40 (e) PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO 70:30, (f) PÓ SIMBIÓTICO ENCAPSULADO 80:20. FONTE: O autor (2016).

De acordo com os resultados apresentados na FIGURA 10, pode ser observado que o produto simbiótico em pó 60:40 (FIGURA 10d) apresentou perda de massa em quatro etapas, enquanto as amostras 70:30 (FIGURA 10e) e 80:20 (FIGURA 10f) mostraram perda de massa em cinco etapas. Em todas as amostras,

a primeira perda de massa se deve a desidratação e as demais são atribuídas à decomposição e oxidação da matéria orgânica. A estabilidade final do produto simbiótico em pó foi diretamente proporcional ao aumento da maltodextrina.

Na FIGURA 11 são apresentadas as curvas de DSC com ciclos de resfriamento e aquecimento de cada amostra.

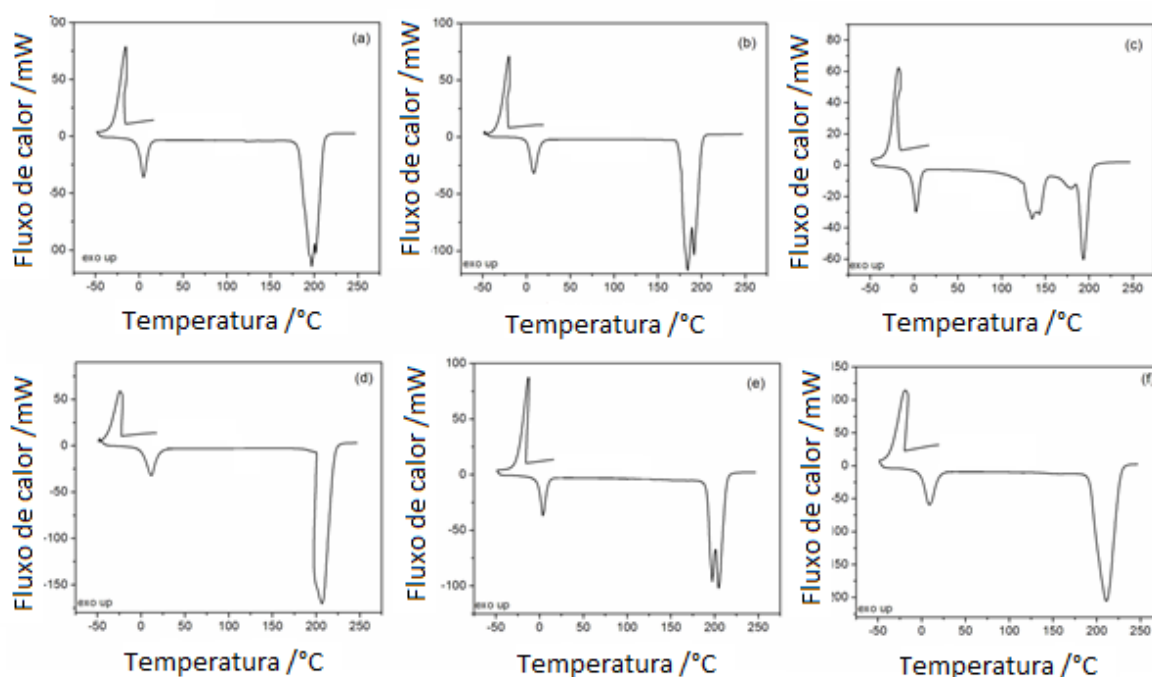


FIGURA 11 - CURVAS DSC DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30, (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.
FONTE: O autor (2016).

Tal como observado na FIGURA 11, todas as substâncias apresentaram um fenômeno exotérmico no 1º ciclo (resfriamento), o que se deve ao processo de cristalização. Na TABELA 11 são apresentados todos os parâmetros obtidos, de temperatura de início pico e conclusão (T_0 , T_p e T_c), bem como a entalpia calculada (ΔH).

TABELA 11 - PARÂMETROS TERMOGRAVIMÉTRICOS (TG/DTG) DE (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30 e (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.

AMOSTRAS	DSC CRISTALIZAÇÃO			
	$T_o/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$	$T_c/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J.g}^{-1}$
(a)	$-12,70 \pm 0,2^{ab}$	$-15,18 \pm 0,02^b$	$-27,37 \pm 0,55^b$	$193,20 \pm 1,68^c$ (exo)
(b)	$-17,97 \pm 1,27^d$	$-19,67 \pm 0,11^e$	$-30,41 \pm 0,63^c$	$167,20 \pm 1,70^d$ (exo)
(c)	$-14,67 \pm 0,99^{bc}$	$-15,54 \pm 0,09^c$	$-26,34 \pm 0,10^b$	$138,00 \pm 0,70^e$ (exo)
(d)	$-16,34 \pm 0,38^{cd}$	$-24,45 \pm 0,20^f$	$-36,36 \pm 1,00^e$	$597,70 \pm 2,43^b$ (exo)
(e)	$-12,11 \pm 0,38^a$	$-12,73 \pm 0,02^a$	$-24,28 \pm 1,22^a$	$194,60 \pm 0,64^c$ (exo)
(f)	$-17,31 \pm 1,34^{cd}$	$-19,07 \pm 0,01^d$	$-34,01 \pm 0,29^d$	$778,20 \pm 2,74^a$ (exo)

Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). T_o : temperatura inicial, T_p : temperatura de "pico", T_c : temperatura conclusão, ΔH : entalpia.

FONTE: O autor (2016).

Quando as amostras atingiram -50°C foi iniciado o segundo ciclo (aquecimento) até a temperatura de 250°C (TABELA 12). O primeiro pico endotérmico de fusão foi atribuído a cada uma das substâncias. Diferenças na T_p e ΔH , são atribuídos à desidratação que ocorre em baixas temperaturas, uma vez que os cadinhos utilizados apresentam tampa perfurada.

TABELA 12 - RESULTADOS DSC PARA PARÂMETROS DE FUSÃO DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE, (b) MALTODEXTRINA, (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30, (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.

AMOSTRAS	DSC FUSÃO			
	$T_o/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$	$T_c/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J.g}^{-1}$
(a)	$-1,55 \pm 0,10^c$	$4,97 \pm 0,01^d$	$11,15 \pm 0,50^e$	$200,10 \pm 1,39^c$ (endo)
(b)	$0,99 \pm 0,02^a$	$8,38 \pm 0,05^c$	$14,97 \pm 0,53^b$	$196,20 \pm 4,15^c$ (endo)
(c)	$-2,70 \pm 0,10^d$	$2,50 \pm 0,04^f$	$7,26 \pm 0,09^d$	$145,40 \pm 2,25^d$ (endo)
(d)	$0,87 \pm 0,05^a$	$11,51 \pm 0,01^a$	$18,23 \pm 0,12^a$	$675,50 \pm 2,87^b$ (endo)
(e)	$-1,46 \pm 0,07^c$	$3,56 \pm 0,19^e$	$9,34 \pm 0,07^c$	$200,60 \pm 0,56^c$ (endo)
(f)	$-0,76 \pm 0,03^b$	$8,91 \pm 0,10^b$	$17,75 \pm 0,43^a$	$823,80 \pm 1,93^a$ (endo)

Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). T_o : temperatura inicial, T_p : temperatura de "pico", T_c : temperatura conclusão, ΔH : entalpia.

FONTE: O autor (2016).

O segundo pico endotérmico observado nas curvas de DSC (FIGURA 10) se devem ao processo de evaporação e decomposição que ocorre em fases

sucessivas e sobrepostas, em correspondência com as curvas de TG/DTG. Estes eventos endotérmicos foram deslocados para temperaturas mais elevadas, atribuídas ao uso de tampa perfurada e as diferenças de condutividade térmica dos cadinhos utilizados. Todos os parâmetros desta primeira etapa de decomposição estão apresentados na TABELA 13.

TABELA 13 - RESULTADOS DSC PARA PARÂMETROS DE DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS DE: (a) SORO DE LEITE; (b) MALTODEXTRINA; (c) SUCO PURO DE YACON; (d) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40; (e) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30; (f) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20.

AMOSTRAS	DSC DESCOMPOSIÇÃO			
	$T_o^{\circ}\text{C}$	$T_p^{\circ}\text{C}$	$T_c^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J.g}^{-1}$
(a)	184,50±0,02 ^d	197,36±0,05 ^d	209,81±0,09 ^d	1374±2,00 ^c (endo)
(b)	176,23±0,08 ^e	184,61±0,01 ^f	199,40±0,01 ^f	1284±3,21 ^d (endo)
(c1)	131,44±0,29 ^f	134,38±0,10 ^g	149,51±0,04 ^g	310±1,46 ^g (endo)
(c2)	186,31±0,02 ^c	193,46±0,14 ^e	201,61±0,10 ^e	463,80±2,40 ^f (endo)
(d)	194,50±0,17 ^a	206,58±0,40 ^b	220,29±0,38 ^b	5175±5,13 ^b (endo)
(e)	191,22±0,03 ^b	204,72±0,17 ^c	213,23±0,14 ^c	1151±4,16 ^e (endo)
(f)	191,62±0,03 ^b	211,30±0,17 ^a	226,61±0,04 ^a	5425±2,52 ^a (endo)

Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). T_o : temperatura inicial, T_p : temperatura de "pico", T_c : temperatura conclusão, ΔH : entalpia.

FONTE: O autor (2016).

5.9 MICROSCOPIA

Nas microestruturas dos produtos simbióticos em pó foi observada a formação de grânulos de tamanho variável, na maioria com superfície lisa e algumas partículas com superfície rugosa (Figura 12). A formação de microestruturas com superfícies rugosas é indesejável, uma vez que afeta as condições de escoamento do material (ROSENBERG *et al.*, 1985). As FIGURAS 12a, produto simbiótico em pó 60:40, e FIGURA 12b, produto simbiótico em pó 70:30 mostraram superfície rugosa e uma forte tendência para aglomeração, provavelmente devido ao fato de que são mais higroscópicos. A natureza higroscópica dos pós com elevado teor de hidratos de carbono são atribuídos ao estado amorfo. No caso dos sucos de frutas, açúcares são responsáveis por interações fortes com a molécula de água devido aos grupos polares presentes

nestas moléculas. Resultados semelhantes foram obtidos por Rodriguez-Hernandez *et al.*, 2005; Lago *et al.*, 2012 e Mishra *et al.*, 2014. Na proporção de 80:20 (FIGURA 12c), foi observada a presença de grânulos em toda extensão da imagem microscópica indicando homogeneidade de tamanho e encapsulação, o que indica que a maltodextrina e o soro de leite nesta proporção agiram como um bom agente encapsulante, protegendo o material a ser revestido.

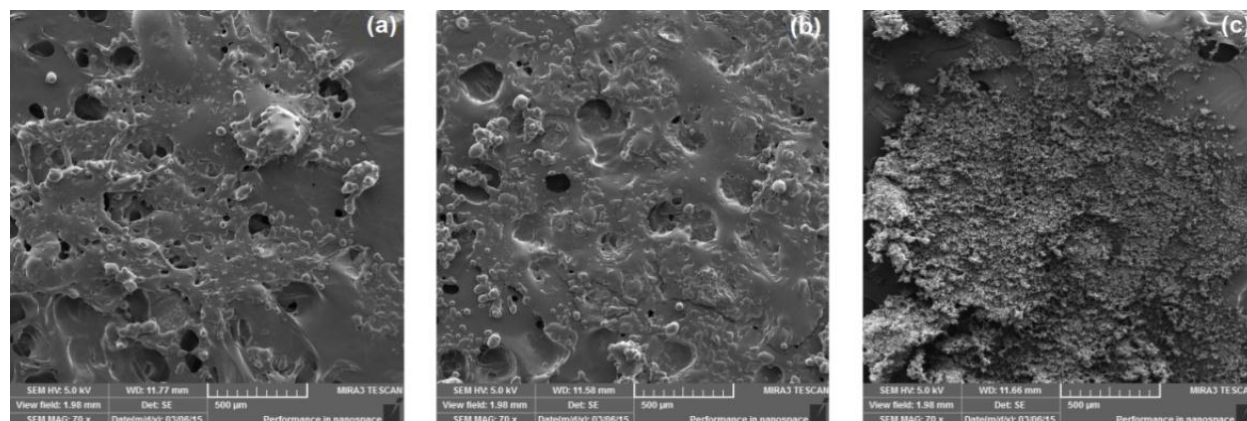


FIGURA 12 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE EMISSÃO DE CAMPO (FEG - SEM) – AMPLIAÇÃO DE 750X. (a) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 60:40 (b) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 70:30, (c) PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ 80:20. FONTE: O autor (2016).

5.10 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO

Os teores de umidade inicial das amostras dos produtos simbióticos em pó nas diferentes concentrações estão apresentados na TABELA 14. A umidade de equilíbrio foi alcançada após 15 dias, com os experimentos acondicionados em estufa à temperatura controlada de 25°C.

TABELA 14 - UMIDADE INICIAL DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ NAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AGENTES ENCAPSULANTES

AMOSTRAS	UMIDADE INICIAL*
A	7,30 ± 0,62
B	7,70 ± 0,24
C	6,93 ± 0,15

*Proporções empregadas de maltodextrina e soro de leite (A) 60:40; (B) 70:30 e (C) 80:20 (m/m). FONTE: O autor (2016).

Foi possível observar visualmente que ocorreram aglomeração e escurecimento do produto nas amostras armazenadas com soluções salinas em

altas umidades relativas. Fica claro que a aglomeração das partículas provoca uma total alteração nas características macroscópicas do pó. A umidade absorvida provoca uma aglomeração do material, que perde as suas características de pó e passa a ser uma massa sólida e dura, formada pela união de unidades menores.

De acordo com Zimeri e Kokini (2002), a absorção de água reduz a temperatura de transição vítrea do material, e quando ele é armazenado em temperaturas superiores à sua T_g , ocorre a recristalização.

Na TABELA 15 são apresentados os modelos matemáticos selecionados para o ajuste dos dados de umidade relativa para os produtos simbióticos em pó.

A maioria dos modelos selecionados mostrou ajuste satisfatório para todas as amostras utilizadas. Para o produto simbiótico em pó com proporção 60:40, os modelos BET e Langmuir não apresentaram ajuste adequado dos dados. Já os demais modelos apresentados foram considerados satisfatórios, sendo P menor que 10% e variando de 2,35 a 4,35. Os valores de R^2 variaram de 0,951 a 0,987 e SE de 0,01 a 0,244.

Para o produto simbiótico em pó com proporção 70:30, o modelo Langmuir não apresentou um bom ajuste dos dados experimentais. Os modelos GAB, BET e BET Linearizado mostraram ajuste apropriado com P menor que 10% e variando de 1,41 a 7,47. Os valores de R^2 variaram de 0,9517 a 0,993 e SE de 0,012 a 0,171.

O modelo de Langmuir também não apresentou ajuste adequado dos dados experimentais para o produto simbiótico em pó na proporção 80:20. Os outros três modelos foram considerados aceitáveis, pois mostraram ajuste dos dados P menor que 10%, variando de 0,55 a 5,47. Os valores de R^2 variaram de 0,923 a 0,978 e SE de 0,007 a 0,062.

O modelo de GAB foi o que apresentou os dados de equilíbrio de umidade à 25°C mais satisfatórios. De acordo com Timmermann, Chirife e Iglesias (2001), o modelo de GAB foi recomendado como fundamental para representar dados de sorção de umidade pelo *European Project Group COST 90 on Physical Properties of Food*. Esta recomendação foi sugerida com base na capacidade do modelo de GAB representar adequadamente os dados em uma ampla faixa de atividade de água em alimentos (entre 0,1 e 0,9).

TABELA 15 - APLICAÇÃO DOS MODELOS DE GAB, LANGMUIR E BET PARA AJUSTE DOS DADOS DE EQUILÍBRIO DE UMIDADE DOS PRODUTOS SIMBIÓTICOS EM PÓ.

60:40				
MODELO	PARÂMETRO	R ²	P (%)	SE
GAB	X _m = 0,066145 C = 5,022656 K = 0,899514	0,987	2,77	0,0144
Langmuir	X _m = 822,5788 C = 0,000298	0,870	4,35	0,0956
BET	X _m = 157,5840 C = 0,079155 N = 0,019187	0,951	13,74	0,0639
BET	X _m = 1,195257	0,986	2,35	0,2449
Linearizado	C = 0,143907			
70:30				
MODELO	PARÂMETRO	R ²	P (%)	SE
GAB	X _m = 0,0754826 C = 6,245188 K = 0,881298	0,9868	1,51	0,012
Langmuir	X _m = 850,8665 C = 0,00032	0,8830	2,01	0,082
BET	X _m = 916,4387 C = 0,018757 N = 0,016559	0,9517	1,41	0,155
BET	X _m = 1,821506	0,9868	7,47	0,171
Linearizado	C = 0,112557			
80:20				
MODELO	PARÂMETRO	R ²	P (%)	SE
GAB	X _m = 0,080686 C = 8,286660 K = 0,840607	0,978	0,55	0,007
Langmuir	X _m = 653,1157 C = 0,000418	0,916	12,76	0,049
BET	X _m = 952,3911 C = 0,025343 N = 0,012564	0,923	4,27	0,057
BET	X _m = 3,405781	0,963	5,47	0,062
Linearizado	C = 0,066923			

R²: Coeficiente de determinação; P (%): Erro percentual; SE: Erro padrão.

FONTE: O autor (2016).

O conteúdo de umidade da monocamada (X_m) pareceu ser melhor predito pelo modelo de GAB, levando em conta valores de R^2 e a consideração feita por Salwin (1963), que estabeleceu que o modelo de BET não é apropriado para predição do conteúdo de umidade na monocamada.

6 CONCLUSÕES

O produto desenvolvido foi classificado como simbiótico segundo as normas da legislação vigente.

No produto simbiótico em pó desenvolvido, todas as proporções estudadas dos encapsulantes, tanto para maltodextrina quanto para o soro de leite, preservaram o conteúdo de FOS.

A melhor proporção estudada dos agentes encapsulantes foi 80:20 pois apresentou melhor homogeneidade de tamanho, de encapsulação e manteve a viabilidade celular durante as condições gastrointestinais simuladas, mostrando que o *Lactobacillus casei* pode ter ação probiótica.

O *Lactobacillus casei* manteve-se viável após secagem por atomização, durante 30 dias de armazenamento e sob condições gastrointestinais simuladas.

O teor de FOS encontrado após o processo de atomização ficou estável após 30 dias de armazenamento, podendo ser classificado como prebiótico.

A análise térmica permitiu a obtenção dos valores de degradação dos componentes principais do suco de yacon (FOS e inulina).

O modelo de GAB foi o que melhor representou os dados de equilíbrio de umidade a 25°C para todos os tratamentos.

O produto desenvolvido simbiótico em pó apresentou resistência ao processamento térmico e viabilidade durante sua vida útil, assim podemos considerar uma inovação importante para a indústria de alimentos funcionais.

REFERÊNCIAS

- ABADIO, F. D. B.; DOMINGUES, A. M.; BORGES, S. V.; OLIVEIRA, V. M. Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice – effect of maltodextrin concentration and atomization speed. **Journal of Food Engineering**, v.64,p. 285–287, 2004.
- ADHIKARI, B.; HOWES, T.; SHRESTHA, A. K.; BHANDARI, B. R. Development of stickiness of whey protein isolate and lactose droplets during convective drying. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, n.5, p. 420–428, 2007.
- AIDER, M.; HALLEUX, D.; MELNIKOVA, I. Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.10, n.3, p. 334 - 341, 2009.
- ALAMPRESE, C.; FOSCHINO, R.; ROSSI, M.; POMPEI, C.; SAVANI, L. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail – manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. **International Dairy Journal**, v.12, p.201-208, 2002.
- ALBERTON, C.; COLMAN, T. A. D.; SOUZA, J. A. DE; OLIVEIRA, C. S. DE; ANDRADE, M. M. P.; SCHNITZLER, E. Thermal analysis, rheology, x-ray diffractometry and atomic force microscopy in the evaluation of binary mixtures of starch-hydrocolloids. **The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v.3, p. 305-309, 2014.
- ALMEIDA, A. P. S.; AVI, C. M.; BARBISAN, L. F.; MOURA, N. A.; CAETANO, B. F. R.; ROMUALDO, G. R.; SIVIERI, K. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 reduce the early phases of colon carcinogenesis in male Wistar rats. **Food Research International**,v. 74, p. 48–54, 2015.
- AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R. M.; HASSAN, F. A. Prebiotics as functional foods: A review.**Journal of functional foods**, v.5, p.1542-1553, 2013.
- ANDRADE, M. M. P.; OLIVEIRA, C. S. DE.; COLMAN, T. A. D.; COSTA, F. J. O. G.; SCHNITZLER, E. Effects of heat moisture treatment on organic cassava starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2115-2122, 2014.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 02 de junho de 2003.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos – IX Lista de Alegações de propriedade**

funcional aprovados. Julho, 2008. Diário Oficial da União. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso novembro de 2013.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n° 398 de 30 de abril de 1999. **Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, constante do anexo desta portaria.** Diário Oficial da União. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso novembro de 2013.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 15.ed. Washington D.C., 1990.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**, Washington D.C., 1997.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington D.C., 2000.

ARAJARA, F. Yacon, o primo da batata que ajuda a controlar o diabetes. **Saúde**, São Paulo, Brasil, n. 194, p. 38-42, 1999.

ARSLAN, S.; ERBAS, M.; TONTUL, I.; TOPUZ, A. Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* with different wall materials by spray drying. **LWT-Food Science and Technology**, v.63, p.685-690, 2015.

AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; WRIGHT, A.; OUWEHAND, A. editors. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. 3th ed. New York: Marcel Dekker, 2004, p.1-66.

BALI, V.; PANESAR, P. S.; BERA, M. B.; PANESAR, R. Fructooligosaccharides: production, purification and potential applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.55, p.1475-1490, 2015.

BAKER, R. **Controlled release of biologically active agents**. New York: John Wiley & Sons, 1986. p.206-214.

BARBOSA, F. H. F.; SILVA, A. M. S.; DUARTE, R.; NICOLI, J. R. Perfil de Susceptibilidade Antimicrobiana de *Bifidobacterium bifidum* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.1, 2001.

BELÉN, F.; SÁNCHEZ, J.; HERNÁNDEZ, E.; AULEDA, J. M.; RAVENTÓS, M. One option for the management of wastewater from tofu production: Freeze concentration in a falling-film system. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 364-373, 2012.

BELTRAME, F. L.; MAINARDES, R. M.; KHALIL, N. M.; PRESTES, R. A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M. a quantitative validated method using liquid chromatography and chemometric analysis for evaluation of raw material of

Maytenus illicifolia (schrad.) planch., celastraceae . **Química Nova**, v.35, n.2, p.327-331, 2012.

BERGEY, D. H.; HOLT, J. G. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9 ed. **Lippincott Williams and Wilkins**, 1994.

BHUSARI, S.; MUZAFFAR, K.; KUMAR, P. Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. **Powder Technology**, v. 266, p. 354–364, 2014.

BOAVENTURA, B. C. *et al.* Enhancement of bioactive compounds content and antioxidant activity of aqueous extract of mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) through freeze concentration technology. **Food Research International**, v. 23, n. 2, p. 686-692, 2013.

BRINK, M. Y.; TODOROV, S. D. The effect of probiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, n.4, p.813-820, 2006.

BRITES, M. L. **Separação de frutooligossacarídeos a partir do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) por ultrafiltração e encapsulamento por atomização**. 146f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

BURITI, F.; SAAD, S. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. **Archivos latino americanos de nutricion**, v.54, n.4, 2007.

CAMPOS, D.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; CHIRINOS, R.; GALVEZ, A. A.; NORATTO, G.; PEDRESCHI, R. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.135, p.1592–1599, 2012.

CARNEIRO, HELENA. **Microencapsulação de óleo de linhaça por spray dried: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede**. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Ciências de Alimentos Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, 2011.

CASTRO, A.; CÉSPEDES, G.; CARBALLO, S.; BERGENSTAHL, B.; TORNBERG, E. Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food Research International**, v.50, p.392-400, 2013.

CHAMPAGNE, C. P.; ROSS, R. P.; SAARELA, M.; HANSEN, K. F.; CHARALAMPOPOULOS, D. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food Microbiology**, v.149, p.185-193, 2011.

CISLAGHI, F. P. C.; SILVA, C. R.; FREIRE, C. B. F.; LORENZ, J. G.; SANT'ANNA, E. S. *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. **Journal of Food Engineering**, v.113, p.186-193, 2012.

CRITTENDEN, R. G.; PLAYNE, M. J. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. **Trends in Food Science & Technology**, v.7, n.11, p.353-361, 1996.

DELGADO, G. T. C.; TAMASHIRO, W. M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G.M. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): a functional food. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, p. 222-228, 2013.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v.23, n.7, p.1361-1394, 2005.

DIMITRELLOU, D.; KANDYLIS, P.; PETROVIC, T.; BRANKOVIC, S. D.; LEVIC, S.; NEDOVIC, V.; KOURKOUTAS, Y. Survival of spray dried microencapsulated *Lactobacillus casei* ATCC 393 in simulated gastrointestinal conditions and fermented milk. **LWT - Food Science and Technology**, v.71, p.169-174, 2016.

DIONÍSIO, A. P.; SILVA, L. B. C.; VIEIRA, N. M.; GOES, T. S.; WURLITZER, N. J.; BORGES, M. F.; BRITO, E. S.; IONTA, M.; FIGUEIREDO, R. W. Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) functional beverage improve the diabetic state in rats. **Food Research International**, v.77, p.171-176, 2015.

DUONGTHINGOC, D.; GEORGE, P.; KATOPO, L.; GORCZYCA, E.; KASAPIS, S. Effect of whey protein agglomeration on spray dried microcapsules containing *Saccharomyces boulardii*. **Food Chemistry**, v.141, p.1782–1788, 2013.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v.42, n.4, p.136-148, 1988.

EASTMAN, J. E.; MOORE, C.O. **Cold-water-soluble granular starch for gelled food compositions**. US Patent 4465702, 1984.

FAO/WHO. Food and Agricultural Organization of the United Nations / World Health Organization. **Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria**, 2001. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf?ua=1>. Acesso março de 2014.

FRANCO, T. S. **Desidratação de suco de yacon pelo método de camada de espuma**. 192f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, 2015.

FULLER, R. A review: Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365-378, 1989.

GAGGIA, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Review Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, p.15-28, 2010.

GAINO, V.; VOLTARELLI, V.; RENSIS, C.; VIANNA, P. Requeijão cremoso probiótico: avaliação da viabilidade de *Lactobacillus casei*, da composição físico-química e aceitação Sensorial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 3133-3142, 2012.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v.40, n.9, p.1107-1121, 2007.

GIBSON, G. R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition Supplements**, v.1, p. 25–31, 2004.

GOLOWCZYC, M.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P.; ANTONI, G.; ABRAHAM, A. Cellular injuries of spray-dried *Lactobacillus* spp. isolated from kefir and their impact on probiotic properties. **International Journal of Food Microbiology**, v.144, p.556-560, 2011.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Boletim de Biotecnologia**, p.12-22, 1999.

GONÇALVES, M. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico**. Dissertação – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa –UFV, Minas Gerais, 2009.

GRAEFE, S.; HERMANN, M.; MANRIQUE, I.; GOLOMBEK, S.; BUERKERT, A. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. **Field Crops Research**, v. 86, p.157–165, 2004.

GRAU, A.; REA, J. Yacon. *Smallanthus sonchifolius* (Poep.&Endl.)H.Robinson. In: HERMANN, M.; HELLER, J. (Eds.). **Andean roots and tubers: ahupa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of Underutilized and neglected crops**. (Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research). Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy, 1997. p.199-242. Disponível em: <<http://www.cipotato.org/market/ARTChermann/yacon.pdf>> Acesso julho 2014.

GREENSPAN, L. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. **Journal of Research of the National Bureau of Standard**, v. 81, n. 89-102, 1997.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v.40, p.1107-1121, 2007.

GUERGOLETT, K. B.; MAGNANI, M.; MARTIN, J. S.; ANDRADE, C. G. T. J.; GARCIA, S. Survival of *Lactobacillus casei* (LC-01) adhered to prebiotic vegetal fibers. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.11, p. 415–421, 2010.

HARTEMINK, R.; VAN LAERE, K. M. J.; ROMBOUTS, F. M. Growth of enterobacteria on fructo-oligosacharides. **Journal of Applied microbiology**, v.83, p.367-374, 1997.

HAULY, M.; MOSCATTO, J. Inulina e Oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 105-118, 2002.

HERNANDEZ, E.; RAVENTOS, M.; AULEDA, J. M.; IBARZ, A. Concentration of apple and pear juices in a multi-plate freeze concentrator. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.10, p. 348–355, 2009.

HORNUNG, P. S.; OLIVEIRA, C. S.; LAZZAROTTO, M.; LAZZAROTTO, S. R.; SCHNITZLER, E.: Investigation of the photo-oxidation of cassava starch granules – Thermoanalytical, rheological and structural behaviour. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, 2015.

HORVÁTH-KERKAI, E. Manufacturing fruit beverages. In: HUI, Y. H; BARTA, J; CANO, M. P; GUSEK, T; SIDHU, J. S; SINHA, N. **Handbook of Fruits and Fruit Processing**. Ames: Blackwell Publishing, 2006.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2003.

IZIDORO, D. R.; SIERAKOWSKI, M. R.; HAMINIUK, C. W. I.; DE SOUZA, C. F.; SCHEER, A. P. Physical and chemical properties of ultrasonically, spray-dried green banana (*Musa cavendish*) starch, **Journal of Food Engineering**, v. 104, p.639–648, 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Editora Artmed, 2005.

KAUR, N.; GUPTA, A. K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition, **Journal of Biosciences**, v. 27, p.703–714, 2002.

KASIMOĞLU, A.; GÖNCÜOLU, M.; AKGÜN, S. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. **International Dairy Journal**, v.14, p.1063-1073, 2004.

KESHANI, S.; DAUD, W. R. W.; NOUROUZI, M. M.; NAMVAR, F.; GHASEMI, M. Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. **Journal of Food Engineering**, v.146, p.152-162, 2015.

KINGWATEE, N.; APICHARTSRANGKON, A.; CHAIKHAM, P.; WORAMETRACHANON, S.; TECHARUNG, J.; PANKASEMSUK, T. Spray drying

Lactobacillus casei 01 in lychee juice varied carrier materials. **Food Science and Technology**, p.1-7, 2014.

KITIC, D.; JARDIM, D. C. P.; FAVETTO, G. J.; RESNIK, S. L.; CHIRIFE, J. Theoretical prediction of the water activity of standard saturated salt solutions of various temperatures. **Journal of Food Science**, n. 51, p. 1037-1041, 1986.

KRISHNAIAH, D.; NITHYANANDAM, R.; SARBATLY, R. A critical review on the spray drying of fruit extract :Effect of Additives on Physicochemical Properties. **Critical Reviews in food science and nutrition**, v.54, p.449-473, 2014.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

LACHMAN, J.; FERNÁNDEZ, E. C.; ORSÁK, M. Yacon *Smallanthus sonchifolia*(Poepp. etEndl.) H. Robinson chemical composition and use – a review. **Plant, Soil, and Environment**, v. 49, p. 283-290, 2003.

LAGO, C. C.; BERNSTEIN, A.; BRANDELLI, A.; NOREÑA, C. Z. Characterization of Powdered Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Juice and Pulp. **Food Bioprocess Technology**, p.2183–2191, 2012.

LAGO, C. C. **Estudo do suco concentrado e da polpa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**.106.f.Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

LEONE, R. S. **Estudo do processo de incorporação de *Lactobacillus casei* LC-01 em yacon (*Smallanthus sonchifolius*) desidratado em flocos**. 88f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, 2014.

LEONE, R. S., COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Evolved gas analysis (coupled TG-DSC-FTIR) applied in the study of fructooligosaccharides from chicory. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v.4, p.10-12, 2014.

LEONE, R. S., COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Evolved gas analysis (coupled TG-DSC-FTIR) applied to thermal behaviour of inulin. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.108, p. 323-326, 2014.

LEWICKI, P. P. Data and Models of Water Activity. II: Solid Foods. In: RAHMAN, M. S. (Ed.). **Food Properties Handbook**, p. 73-141, CRC Press: Boca Raton, 2008.

MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A. Conservación y uso de La biodiversidad de raíces y tubérculos Andinos: Uma década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Jarabe de yacón: principios y procesamiento. Lima: **Centro Internacional de La Papa**, 2005.

MARTINS, A. R.; BURKERT, C. A. V. Review Galactooligosaccharides (GOS) and their prebiotic and bifidogenic effects. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 3, p. 230-240, 2009.

MARUYAMA, L. K.; CARDARELLI, H. S.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 386-393, 2006.

MARTÍNEZ-CUESTA, M. C.; FERNÁNDEZ DE PALENCIA, P.; REQUENA, T.; PELÁEZ, C. Enzymatic ability of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* FPL731 for flavour development in cheese. **International Dairy Journal**, p.577–585, 2001.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLARINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 173-182, 2002.

MAZOCHI, V.; MATOS, F. E.; VAL, C. H.; DINIZ, D. N.; RESENDE, A. F. Logurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com *Bifidobacterium* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.6, p.1484-1490, 2010.

MENEZES, A. C. S. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada à base de soro de leite e polpa de cajá (*Spondias Mombin* L.) com potencial atividade probiótica**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Rural de Pernambuco, 2011.

MISHRA, P.; MISHRA, S.; MAHANTA, C. L. Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Embllica officinalis*) juice powder. **Food Bioproducts Processing**, v. 92, p.252-258, 2014.

MOSCATTO, J. A.; BORSATO, D.; BONA, E.; OLIVEIRA, A. S.; HAULY, M. C. O. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 181-188, 2006.

MORENO, F. L.; HERNÁNDEZ, E.; RAVENTÓS, M.; ROBLES, C.; RUIZ, Y. A process to concentrate coffee extract by the integration of falling film and block freeze-concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 128, p. 88-95, 2014.

MORRIS, C.; MORRIS, G. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v.133, p.237-248, 2012.

MOURA, N. A.; CAETANO, B. F. R.; SIVIERI, K.; URBANO, L. H.; CABELLO, C.; RODRIGUES, M. A. M.; BARBISAN, L. F. Protective effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) intake on experimental colon carcinogenesis, **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p.2902–2910, 2012.

MUSSATTO, S. I.; MANCILHA, I. M. Non-digestible oligosaccharides: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 587–597, 2007.

MUTANDA, T.; MOKOENA, M. P.; OLANIRAN, A. O.; WILHELMI, B. S.; WHITELEY, C. G. Microbial enzymatic production and applications of short-chain fructooligosaccharides and inulooligosaccharides: Recent advances and current perspectives. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 41, p. 893–906, 2014.

NANDIYANTO, A. B. D.; OKUYAMA, K. Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: From the nanometer to submicrometer size ranges. **Advanced Powder Technology**, v. 22, p. 1-19, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Lost crops of the Incas: little known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press, Washington, D.C., 1989.

NINESS, K. R. Inulin and oligofructose: what are they? **Journal Nutrition**, v. 129, p. 1402-1406, 1999.

NISHI, A. **Extrato aquoso de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) desidratado por atomização**. 84f. 2012. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde). Programa de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Goiás.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. Frutooligosacarídeos: novos ingredientes funcionais. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 27-34, 2002.

OHYAMA, T.; ITO, O.; YASUYOSHI, S.; IKARASHI, T.; MINAMISAWA, K.; KUBOTA, M.; TSUKIHASHI, T.; ASAMI, T. Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 36, p. 167- 171, 1990.

OJANSIVU, I.; FERREIRA, C. L.; SALMINEM, S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, p. 40-46, 2011.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, 2002.

OLIVEIRA, A. C. **Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*, microencapsulados por coacervação, seguida de secagem por spray drying e leite de jorro**. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programas de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

OLIVEIRA, C. S.; ANDRADE, M. M. P.; COLMAN, T. A. D.; COSTA, F. J. O. G.; SCHNITZLER, E. Thermal, structural and rheological behaviour of modified waxy

corn starch with hydrochloric acid at different temperatures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 13-18, 2014.

OSORIO, C.; FORERO, D. P.; CARRIAZO, J. G. Characterisation and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L.) microencapsulates obtained by spray-drying. **Food Research International**, v. 44, p. 1174–1181, 2011.

PAÉZ, R.; LAVARI, L.; VINDEROLA, G.; AUDERO, G.; CUATRIN, A.; ZARITZKY, N.; REINHEIMER, J. Effect of heat treatment and spray drying on *Lactobacilli* viability and resistance to simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, v. 48, p. 748–754, 2012.

PAIM, D. R. S. F.; COSTA, S. D. O.; WALTER, E. H. M.; TONON, R. V. Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* M.) juice by spray drying. **LWT-Food Science and Technology**, v.74, p.21-25, 2016.

PANESAR, P. S.; BALI, V.; KUMARI, S.; BABBAR, N.; OBEROI, H. S. **PREBIOTICS**, IN: G.S. Brar (Ed.), *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*, Springer, NewYork, pp. 237–260, 2014.

PARK, K. J.; ANTONIO, G. C.; OLIVEIRA, R. A.; PARK, K. J. B. **Apostila de conceitos de processo e equipamentos de secagem**, Campinas, CT&EA – Centro de Tecnologia e Engenharia Agroindustrial, 2007.

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of the antibiotics story. **Animal Nutrition and Health**, v. 29, p 4-8, 1974.

PAROLO, C. C. F. **Estudo dos *Lactobacilos* no biofilme dental**. 163p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Programa de Pós Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRS, Porto Alegre, 2009.

PASSOS, L. M.; PARK, Y. K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v.33, n.2, p.385-390, 2003.

PEÑA, A. S. Flora intestinal, probióticos, prebióticos, simbióticos y alimentos Novedosos. **Revista española de enfermedades digestivas**. Madrid, v.99, n.11, p.653-658, 2007.

PETZOLD, G.; AGUILERA, J. Centrifugal freeze concentration. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.20, p.253–258, 2013.

PINTO, S. S.; FREIRE, C. B. F.; BENEDETTI, S.; MURAKAMI, F. S.; PETRUS, J. C. C.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C. Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect *Bifidobacterium*-Bb-12 microencapsulated. **Food Research International**, v.67, p.400-408, 2015.

PRADO, F. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de bebida probiótica à base de água de coco**. 183f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, UFPR, 2007.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p.386-392, 2006.

RAFTER, J.; BENNETT, M.; CADERNI, G.; CLUNE, Y.; HUGHES, R.; KARLSSON, P.C.; KLINDER, A.; O' SULLIVAN, G.C.; POOL-ZOBEL, B.; RECHKEMMER, G.; ROLLER, M.; ROWLAND, I.; SALVADORI, M.; THIJS, H.; VAN LOO, J.; WATZL, B.; COLLINS, J.K. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.85, p.488 – 496, 2007.

RAJAM, R.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. **Food Science and Technology**, v.60, p.773-780, 2015.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and *Propionibacterium jensenii* 702 by spray drying in goat's. **Small Ruminant Research**, v.123, p.155-159, 2015.

RANE, M. V.; UPHADE, D. B. Energy Efficient Jaggery Making using Freeze Pre-Concentration of Sugarcane Juice. **Energy Procedia**, v. 90, p. 370 – 381, 2016.

RASTALL, R. A. Functional oligosaccharides: application and manufacture. **Annual Review of Food Science and Technology**, v.1, p.305-339, 2010.

REID, D. S.; FENNEMA, O. R. Água e gelo. In: DAMODARAN, S; PARKIN, K. L; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

REIG, A. L. C.; ANESTO, J. B. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. **Revista Cubana Alimento Nutricional**, v.16, 2002.

REINECCIUS, G. A. Flavorencapsulation. **Food Reviews International**, v.5. n.2, p.147-176, 1989.

RENHE, I. R. T.; VOLP, A. C. P.; BARBOSA, FERREIRA, K.B.; STRINGHETA, P.C. Prebióticos e os benefícios de seu consumo na saúde. **Revista Brasileira Nutrição Clínica**; v.23, p.119-26, 2008.

ROBERFROID, M.; SLAVIN, J. Nondigestible oligosaccharides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, p. 461–480, 2000.

ROBERFROID, M.; VAN LOO, J.; GIBSON, G. The Bifidogenic Nature of Chicory Inulin and Its Hydrolysis Products. **The Journal of nutrition**, v.128, p.11-19, 1998.

RODRIGUEZ-HERNANDEZ, G. R.; GONZALEZ-GARCIA, R.; GRAZALES-LAGUNES, A.; RUIZ-CABRERA, M. A.; ABUD-ARCHILA, M. Spray drying of cactus

pear juice (*Opuntia streptacantha*):effect on the physicochemical properties of the powder and reconstituted product. **Drying Technology**, v.23, p.955–973, 2005.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, v.50, p.139-144,1985.

SAAD, S. M. I. Probióticos e Prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.42, p.1 –16, 2006.

SALWIN, H. Moisture levels required for stability in dehydrated foods. **Food Technology**, v. 17, p.1114-1121, 1963.

SHAH, N. P. *Bifibobacterium spp*: aplications in fermented milks. **Encyclopedia of dairy sciences**, p.685-697, 2011.

SÁNCHEZ, J.; HERNÁNDEZ, E.; AULEDA, J.M.; RAVENTÓS, M. Freeze concentration of whey in a fallingfilm based pilot plant: process and characterization. **Journal of Food Engineering**, v.103, p.147-155, 2011.

SÁNCHEZ, J.; RUIZ, Y.; RAVENTÓS, M.; AULEDA, J. M.; HERNÁNDEZ, E. Progressive freeze concentration of orange juice in a pilot plant falling film. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 644-651, 2010.

SANTANA, I.; CARDOSO, M. H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.3, p. 898-905, 2008.

SANTIVARANGKNA, C.; KULOZIK, U.; FOERST, P. Effect of carbohydrates on survival of *Lactobacillus helveticus* during vacuum drying. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 271–276, 2006.

SANTOS, R. C. S. **Microencapsulação de *Lactobacillus casei* por spray drying**.105f.Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) –Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SCHREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n.2, p. 361-364, 2001.

SEMINÁRIO, J.; VALDERRAMA, M. El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. 1.ed.Lima,2005. Disponível online: http://www.cipotato.org/market/PDFdocs/Yacon_Fundamentos_password.pdf. Acesso em: 02.agosto.2016.

SEMINÁRIO, J.; VALDERRAMA, M., MANRIQUE,I. El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Centro Internacional de la Papa (CIP),

Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE), Lima, Perú, 2003.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.33, n.6, p.501-547, 1993.

SHEU, T. Y.; MARSHALL, R. T.; HEYMANN, H. Improving Survival of Culture Bacteria in Frozen Desserts by Microentrapment. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1902-1907, 1993.

SHI, Q.; ZHENG, Y.; ZHAO, Y. Mathematical modeling on thin-layer heat pump drying of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) slices. **Energy Conversion and Management**, v.71, p.208-216, 2013.

SILVA, R. F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, v.41, p.792-795, 1996.

SILVA, A. S. S. **A raiz do yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping&Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência pós-prandial**. Tese (Doutorado em Ciência e tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, 2007.

SILVA, J. P. **Seleção de microrganismos osmofílicos isolados de favo-de-mel para produção de frutooligosacarídeos por fermentação**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 2008.

SILVA, S. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade federal de Santa Maria –RS, UFSM, 2007.

SILVA, P. T.; FRIESI, L. L. M.; MENEZES, C. R.; SILVA, C. B.; SORIANI, H. H.; BASTOS, J. O.; MOTT, M. H.; RIBEIRO, R. F. Microencapsulação de probióticos por spray drying: avaliação da sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas e da viabilidade sob diferentes temperaturas de armazenamento. **Ciência Rural**, 2014.

SINGH, R. P.; SARKAR, A. Thermal properties of frozen food. In: **Engineering Properties of Foods**, Edited by RAO, M. A.; RIZVI, S. S. H.; DATTA, A. K. Chapter 5, pp. 175-207, 2005.

SINGH, R. S.; SINGH, R. P.; KENNEDY, J. Recent insights in enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p.565–572, 2016.

SLUKOVA, M.; HINKOVA, A.; HENKE, S.; SMRZ, F.; LUKACÍKOVA, M.; POUR, V.; BUBNÍK, Z. Cheese whey treated by membrane separation as a valuable ingredient for barley sourdough preparation. **Journal of Food Engineering**, 172, p.38-47, 2016.

SOUKOULIS, C.; JOBBEHDAR, S. B.; YONEKURA, L.; PARMENTER, C.; FISK, I. Impact of Milk Protein Type on the Viability and Storage Stability of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 Using Spray Drying. **Food Bioprocess Technology**, v.7, p.1255-1268, 2014.

SOUZA, S.; PINTO, J.; PEREIRA, C.; MALCATA, F. X.; PACHECO, M. T. B. GOMES, A. M.; PINTADO, M. In vitro evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. **Food and Bioproducts Processing**, v.95, p.96-105, 2015.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencasulação: Inovação em diferentes áreas. **Health and Environment Journal**, v.7, p.12-20, 2006.

STRAATHOF, A. J. J.; KIEBOOM, A. P. G.; BEKKUM, H. V. Invertase-catalysed fructosyl transfer in concentrated solutions of sucrose. **Carbohydrate Research**, n.146, p.154-159, 1986.

TANNOCK, G. W. Identification of *Lactobacilli* and *Bidobacteria*. **Current Issues Molecular Biology**, v.1, p. 45- 56, 1999.

TIMMERMANN, E. O.; CHIRIFE, J.; IGLESIAS, H. A. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? **Journal of Food Engineering**, n. 48, p. 19-31, 2001.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpeoleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, p. 411 – 418, 2008.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, v. 9, p.225–241, 2014.

VALADÃO, R. C. **Estudo da fermentação semi-sólida de uma linhagem de uma linhagem selecionada de *Aspergillus niger* na produção de inulinase**. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Sorópédica, 2005.

VALCHEVA, R.; DIELEMAN, L. Prebiotics: Definition and protective Mechanisms. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.30, p.27-37, 2016.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. Ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 1992.

VAN LAERE, A.; VAN DEN ENDE, W. Inulin metabolism in dicots: Chicory as amodel system. **Plant Cell and Environment**, v.25, p.803–813, 2002.

VEGA, C.; ROOS, Y. H. Invited review: Spray – dried dairy and dairy-like – emulsions compositional considerations. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.383-401, 2006.

VERMA, A.; SINGH, S. Spray Drying of Fruit and Vegetable Juices- A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.55, p.701-719, 2013.

VILLEGAS, B.; COSTELL E. Flow behavior of inulin-milk beverages. Influence of inulin average chain length and of milk fat content. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 7, p. 776-781, 2007.

WANG, W.; JIANG, Y.; ZHOU, W. Characteristics of soy sauce powders spray-dried using dairy whey proteins and maltodextrins as drying aids. **Journal of Food Engineering**, v.119, p.724-730, 2013.

WATANABE, F. **Estudo da viabilidade de *Bifidobacterium animalis ssp.lactis* em suco de yacon**. 90f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

WIECHETECK, F. V. B.; NOGUEIRA, A.; DRILLEAU, J. F.; WOSIACKI, G. Efeito da crioconcentração sobre o teor de compostos fenólicos em mostos industriais de maçãs. **Publicatio UEPG. Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v.11, n.1, p.27-34, 2005.

WOLF, W.; SPIESS, W. E. L.; JUNG, G.; WEISSER, H.; BIZOT, H.; DUCKWORTH, R. B. The water-vapour sorption isotherms of microcrystalline cellulose (MCC) and of purified potato starch. Results of a collaborative study. **Journal of Food Engineering**, v. 3, n. 1, p. 51-73, 1984.

YASMIN, A.; BUTT, M. S.; AFZAAL, M.; BAAK, M.; NADEEM, M. T.; SHAHID, M. Z. Prebiotics, gut microbiota and metabolic risks: Unveiling the relationship. **Journal of Functional Foods**, v.17, p.189-201, 2015.

YING, D. Y.; CHWANDER, S.; WEERAKKODY, R.; SANGUANSRI, L.; DEMARCHI, C. G.; AUGUSTIN, M. A. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice. **Journal of Functional Foods**, xxx, 2012.

YUN, J. W. Fructooligosaccharides – occurrence, preparation, and application. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 19, p. 107-117, 1996.

YUN, J. W.; SONG, S. K. Enzymatic Production of Fructooligosaccharides from Sucrose. In: BUCKE, Christopher (Comp.). **Carbohydrate Biotechnology Protocols: Methods in Biotechnology**. Totowa, NJ: Humana Press Inc., p. 141-152, 1999.

ZARDINI, E. Ethnobotanical notes on "Yacon", *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). **Economic Botany**, v. 45, n.1, p. 72-85, 1991.

ZIMERI, J. E.; KOKINI, J. L. The effect of moisture content on the crystallinity and glass transition temperature of inulin. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 3, p. 299-304, 2002.

ANEXOS

**ANEXO I – TABELA COM CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO SORO
DE LEITE E MALTODEXTRINA**

	Maltodextrina
Umidade	8,92%
Cinzas*	0,15%
Proteínas*	0,25%
Lipídeos*	Não detectado
Carboidratos + Fibras*	99,6%

*base seca

	Soro de leite
Umidade	3%
Cinzas*	4,25%
Proteínas*	11,87%
Lipídeos*	0,389%
Carboidratos + Fibras*	83,49%

*base seca

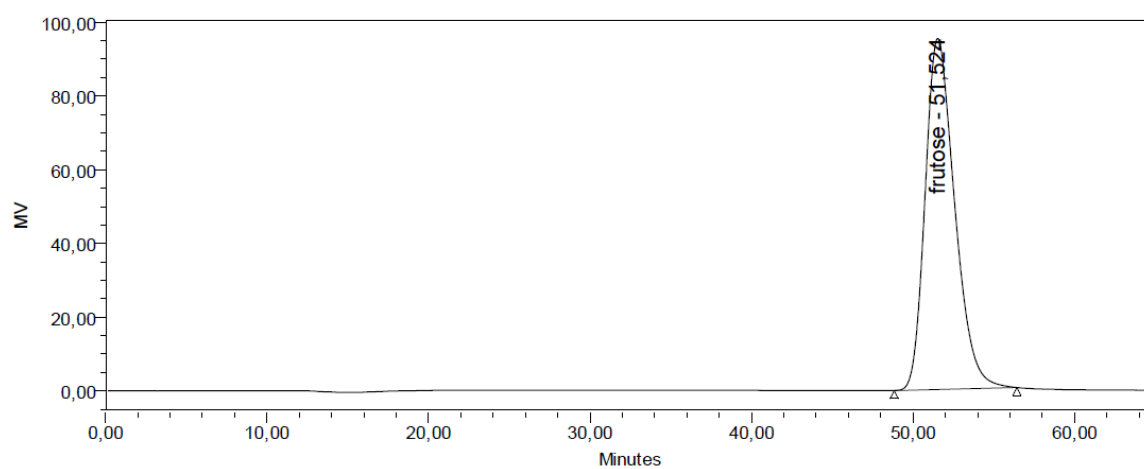
**ANEXO II – TABELA COM CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO SUCO
DE YACON CRIOCONCENTRADO**

Suco de yacon crioconcentrado	
Umidade	83,40 ± 0.65%
Cinzas*	0.84 ± 0,30%
Proteínas*	3,79 ± 0,26%
Lipídeos*	0,24±0,15%
pH	5,88±0,08
sólidos solúveis (°Brix)	18

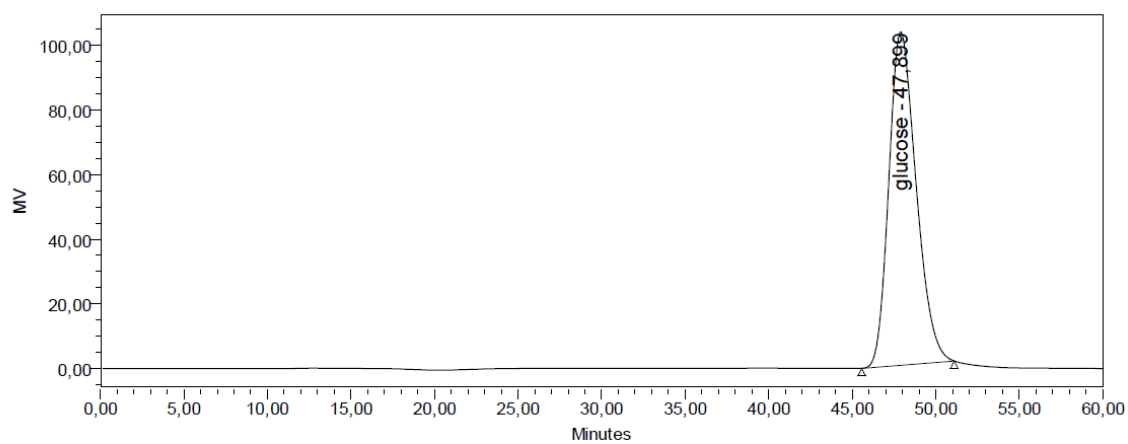
*base seca

**ANEXO III—CROMATOGRAMAS E CURVA PADRÃO DA GLUCOSE, FRUTOSE
E FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS**

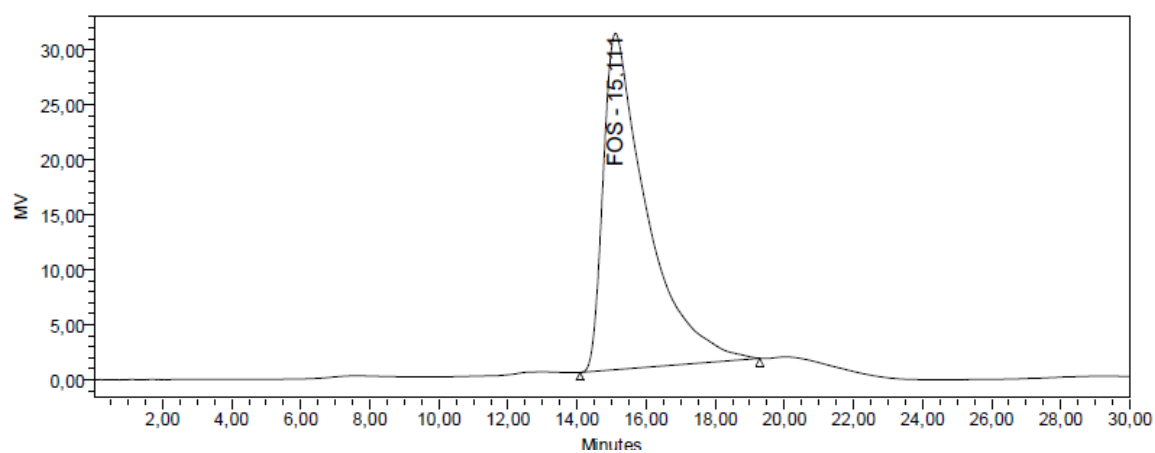
Fructose: $y = 9,69 \cdot 10^6 x + 2,35 \cdot 10^6$



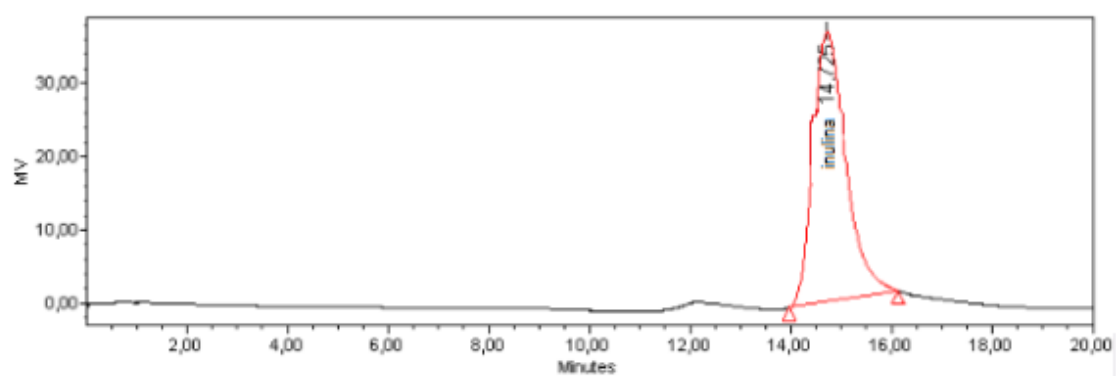
Glucose: $y = 9,86 \cdot 10^6 x + 1,86 \cdot 10^6$



Frutooligossacarídeos: $y = 3,90 \cdot 10^6 x + 5,54 \cdot 10^5$

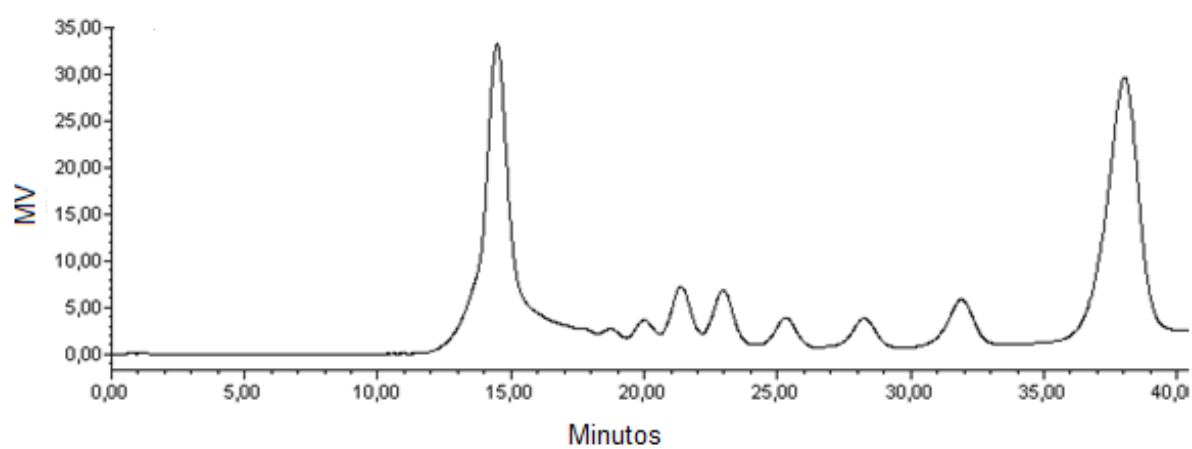


Inulina: $y = 6 \cdot 10^6 x + 4 \cdot 10^6$

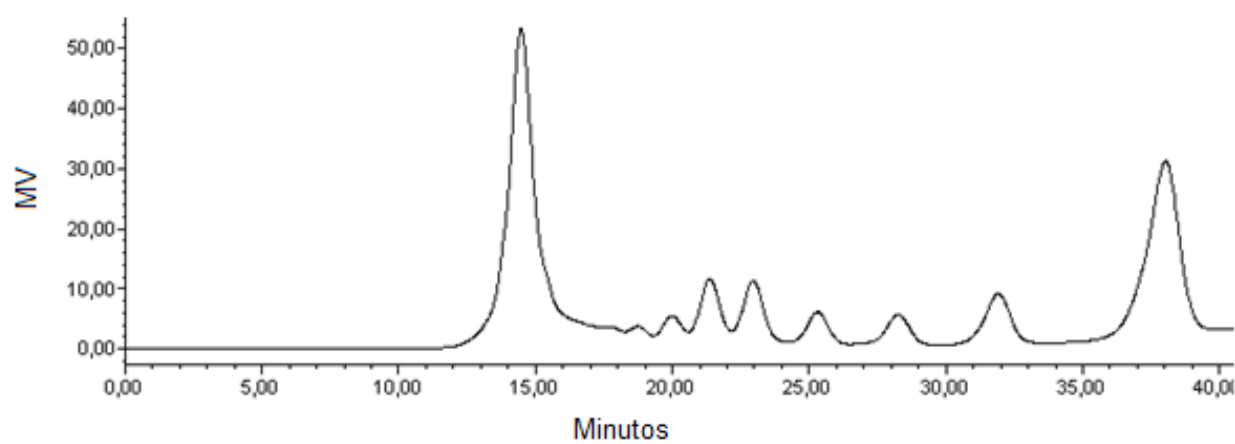


ANEXO IV- CROMATOGRAMAS DO PRODUTO SIMBIÓTICO EM PÓ

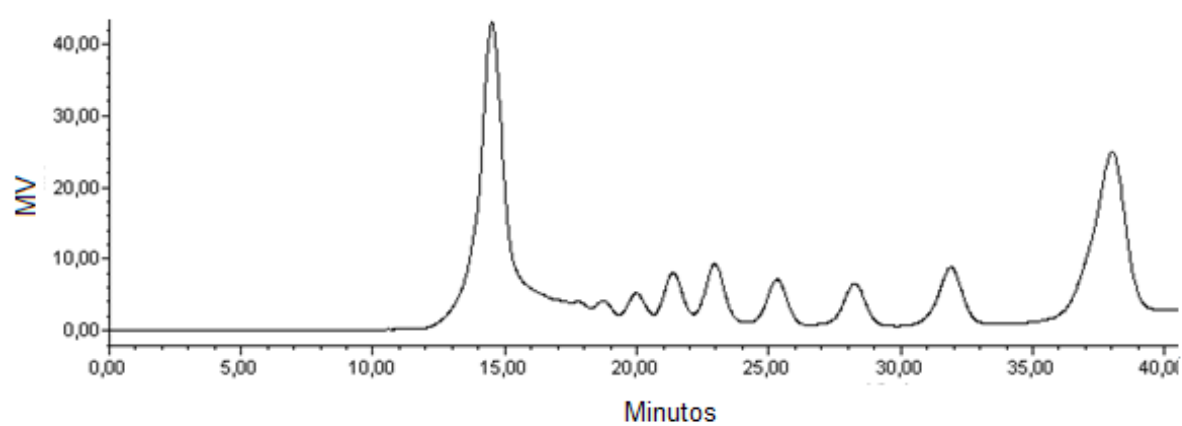
60:40



70:30

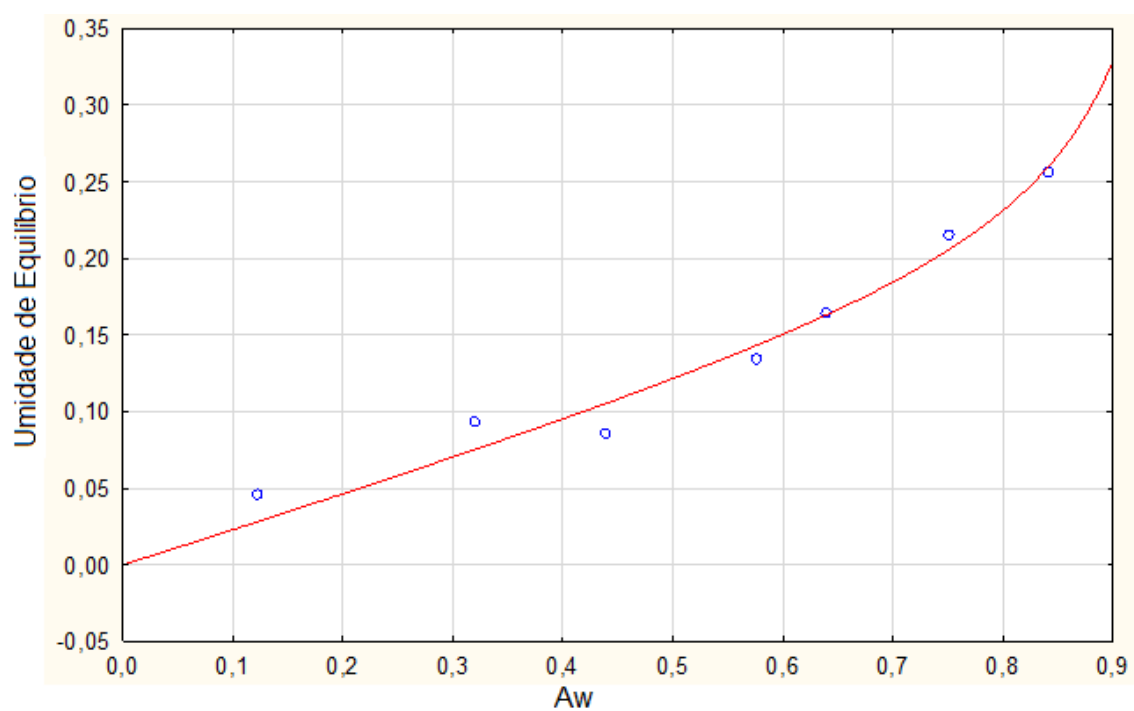


80:20

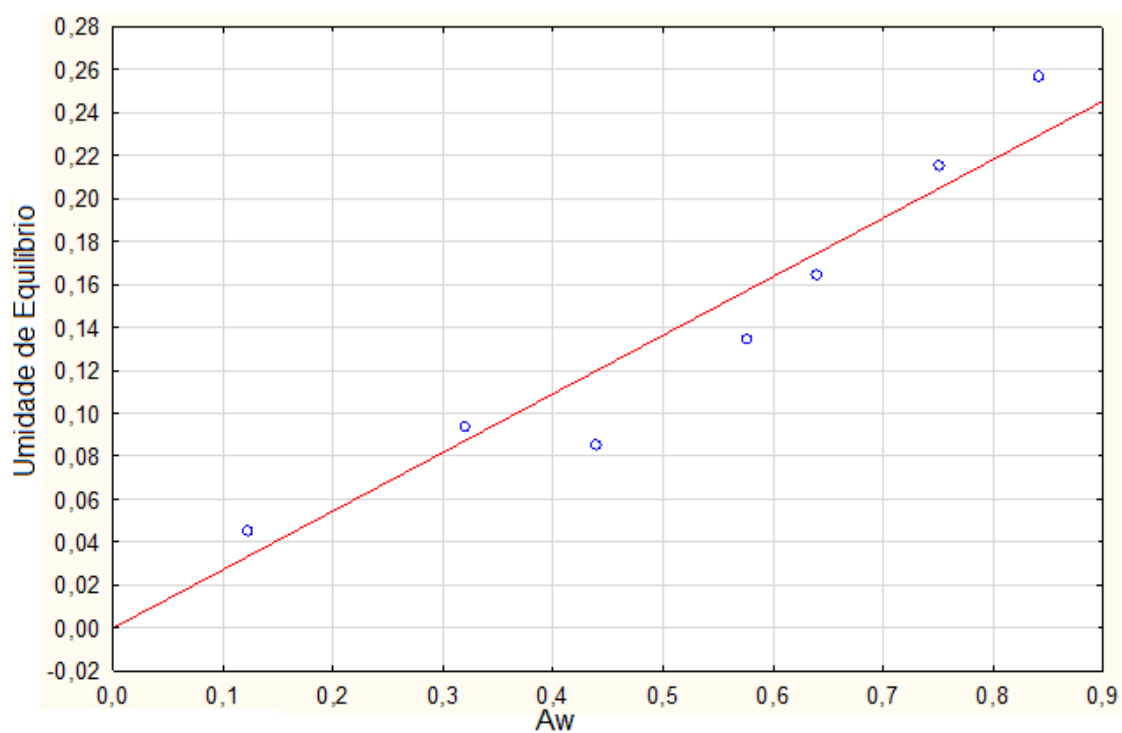


ANEXO V – ISOTERMAS DE SORÇÃO

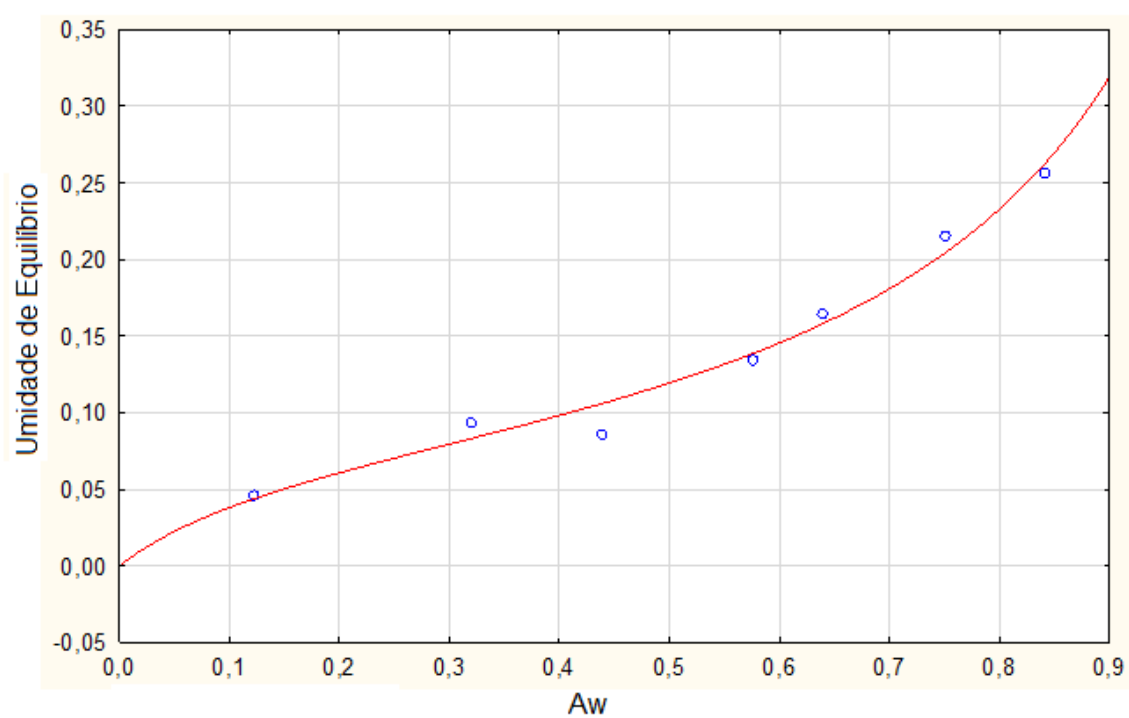
BET LINEARIZADO 80:20



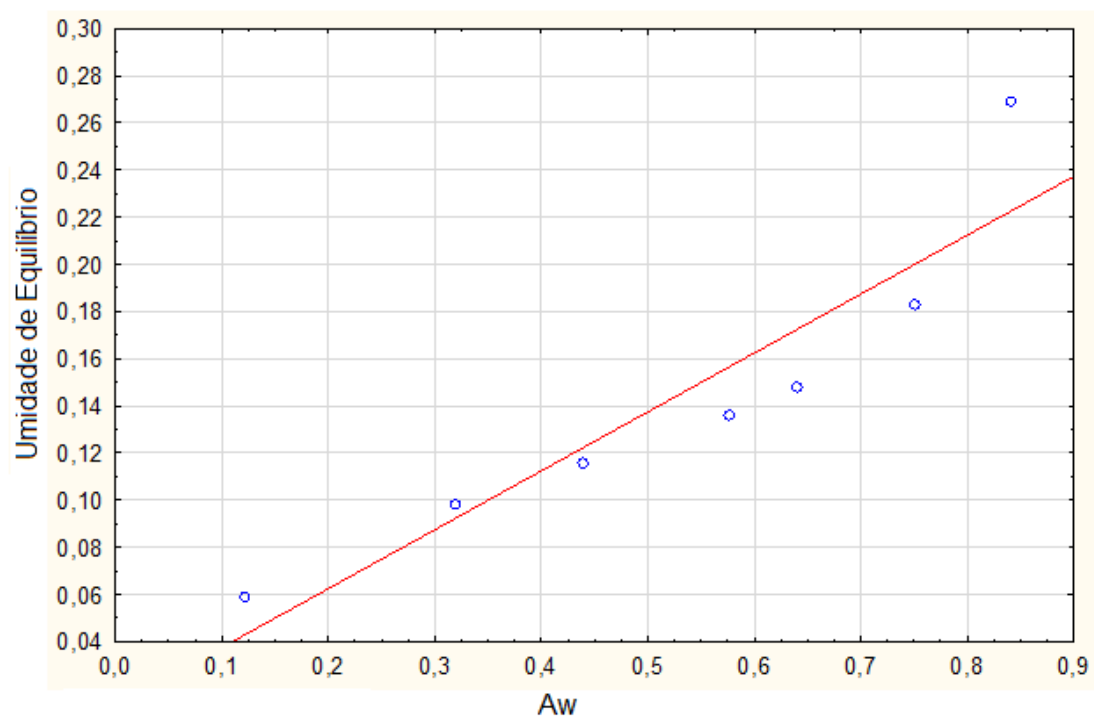
LANGMUIR 80:20



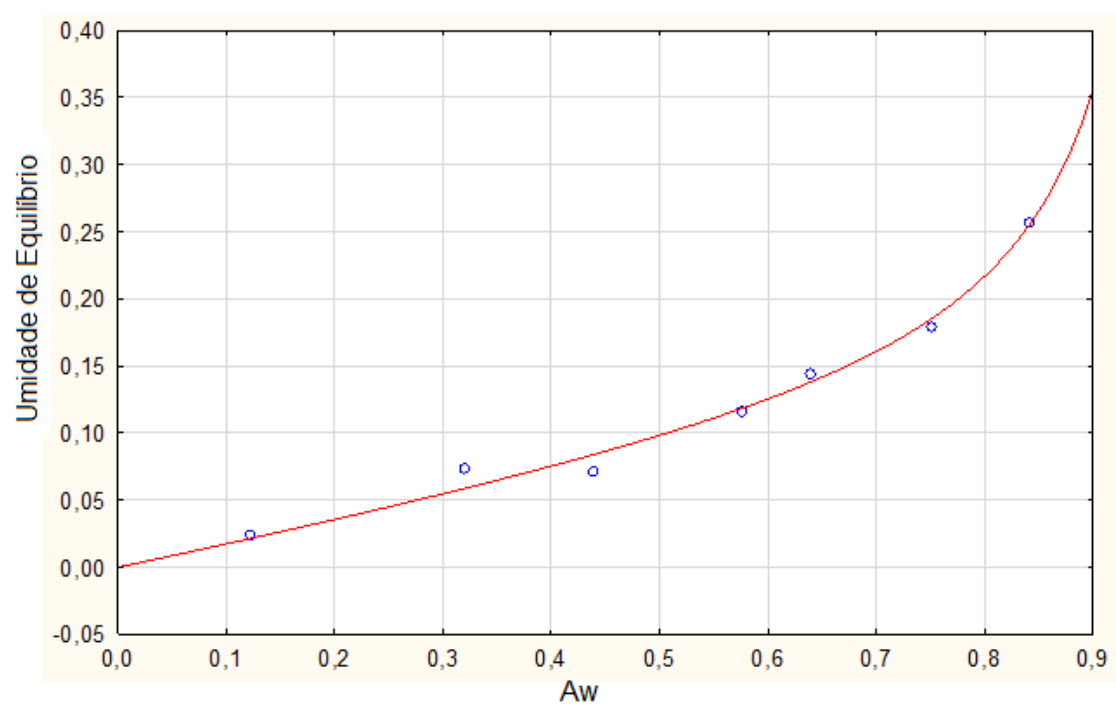
GAB 80:20



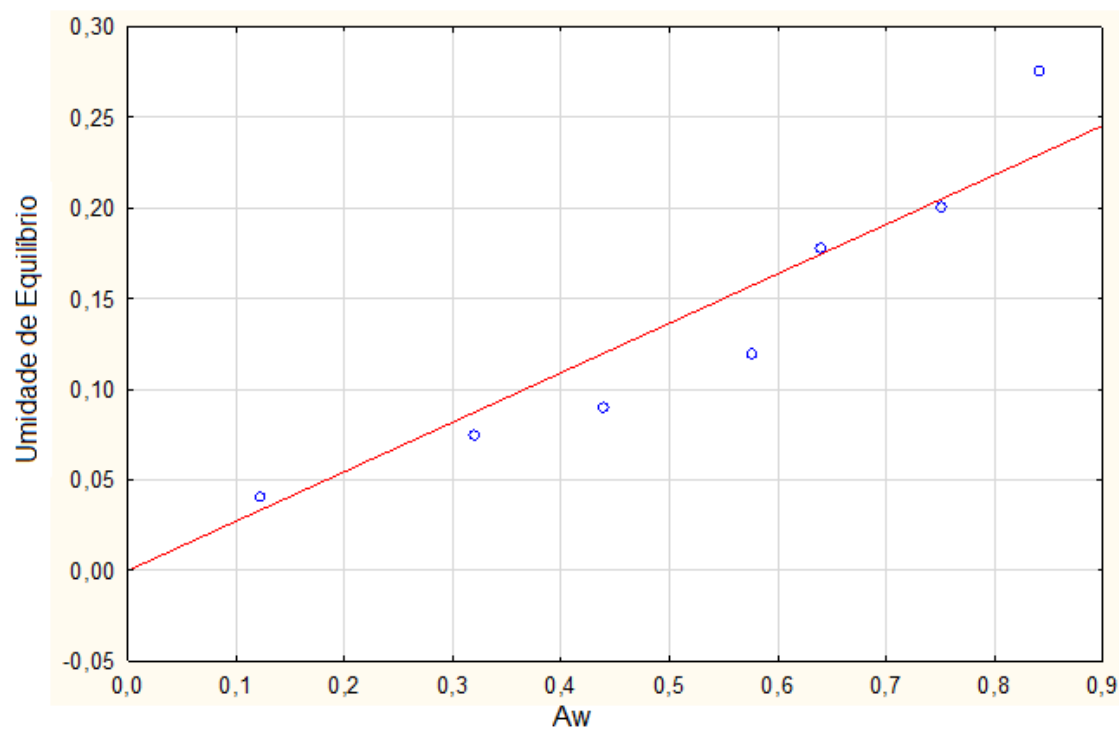
BET 80:20



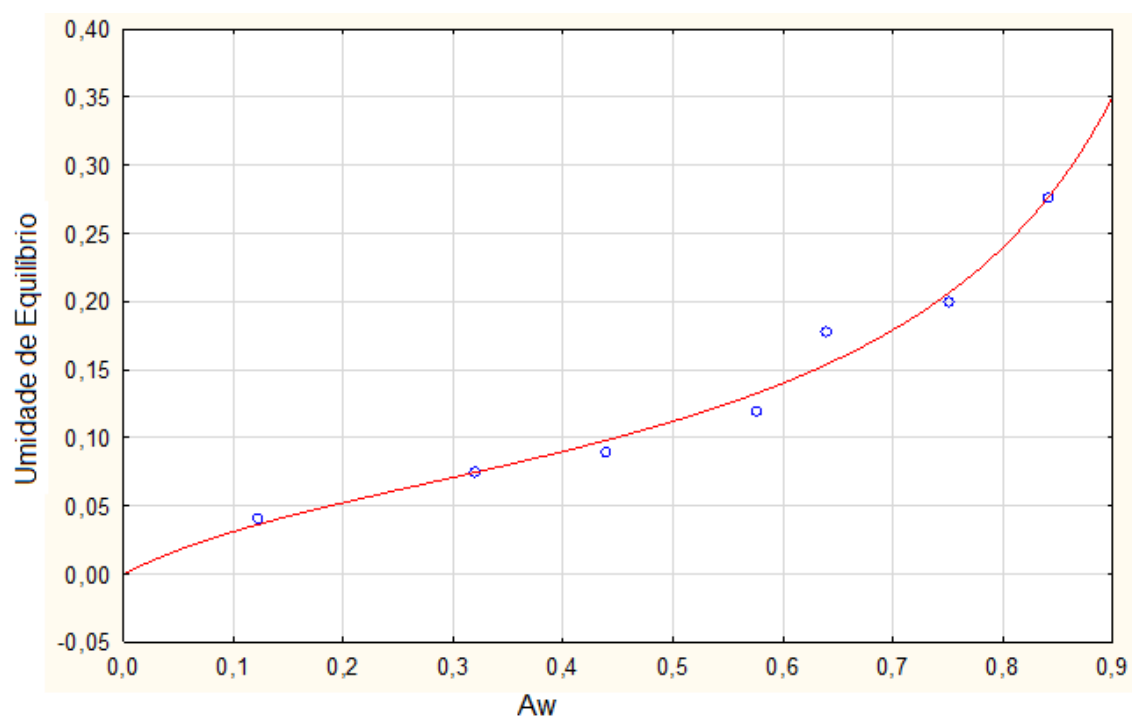
BET LINEARIZADO 70:30



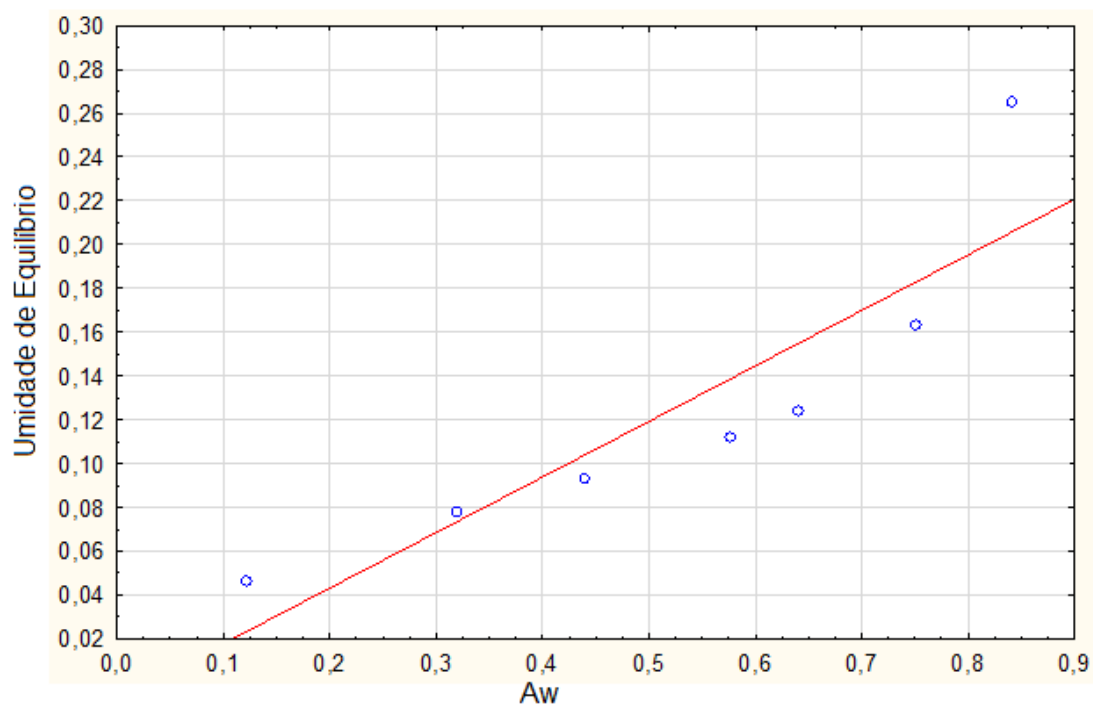
LANGMUIR 70:30



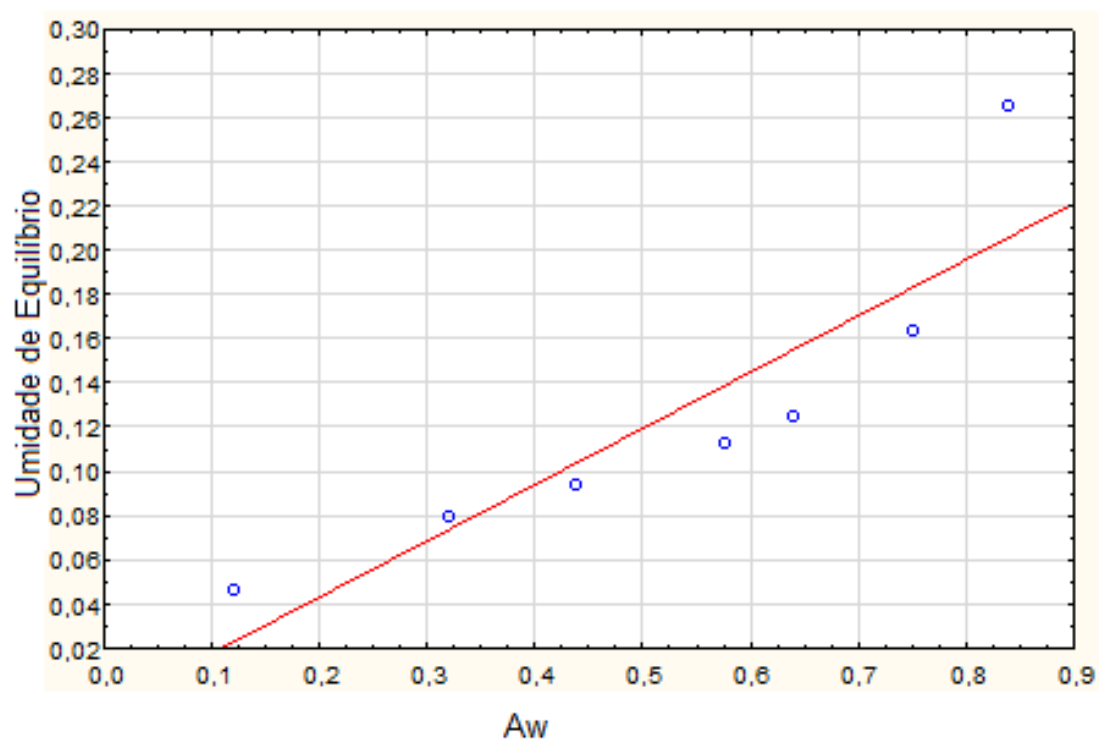
GAB 70:30



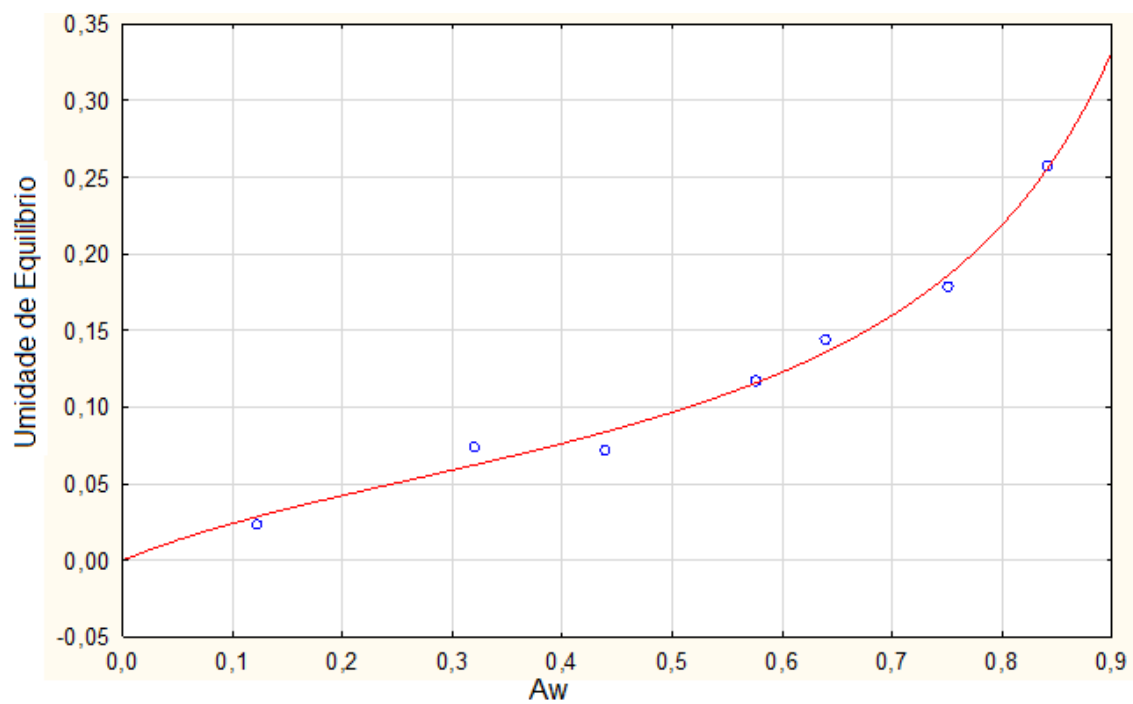
BET 70:30



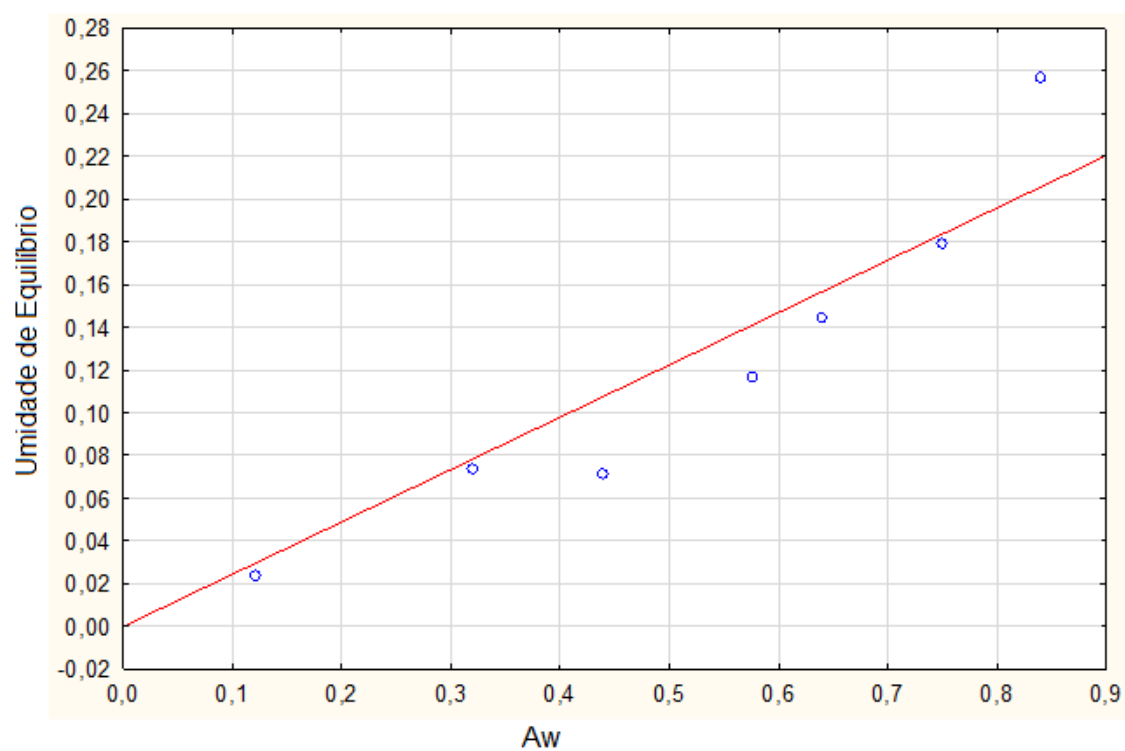
BET LINEARIZADO 60:40



GAB 60:40



LANGMUIR 60:40



BET 60:40

